



①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑩ **DE 41 39 639 A 1**

⑤1 Int. Cl.<sup>5</sup>:  
**C 07 K 15/06**  
C 07 K 3/02  
A 61 K 35/16  
A 61 K 35/50  
A 61 K 37/02

②1 Aktenzeichen: P 41 39 639.1  
②2 Anmeldetag: 2. 12. 91  
④3 Offenlegungstag: 3. 6. 93

DE 41 39 639 A 1

⑦1 Anmelder:

Schülke & Mayr GmbH, 2000 Norderstedt, DE

⑦4 Vertreter:

Stolberg-Wernigerode, Graf zu, U., Dipl.-Chem.  
Dr.rer.nat.; Suchantke, J., Dipl.-Ing.; Huber, A.,  
Dipl.-Ing.; von Kameke, A., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.;  
Voelker, I., Dipl.-Biol.; Franck, P., Dipl.-Chem.ETH  
Dr.sc.techn., Pat.-Anwälte, 2000 Hamburg

⑦2 Erfinder:

Antrag auf Nichtnennung

⑤4 Wäßrige synthetische Organextrakte

⑤7 Die Erfindung betrifft ein neues Konzept zum Aufbau von wasserlöslichen bzw. wäßrigen, synthetischen Organextrakten, mit denen mindestens das jeweilige Wirkungsspektrum eines entsprechenden Naturstoffextraktes erreicht wird, wobei jedoch die auf die Anwesenheit von pathogenen bzw. virulogen Proteinen, Protein-Abbau-Produkten und Hormonen zurückzuführenden Beeinträchtigungen vermieden werden können. Die Erfindung betrifft ferner Verfahren zur Herstellung derartiger synthetischer Organextrakte sowie deren Verwendung zur Herstellung kosmetischer und medizinischer Formulierungen.

DE 41 39 639 A 1

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft wäßrige synthetische Organextrakte, Verfahren zu deren Herstellung sowie pharmazeutische und kosmetische Zusammensetzungen, die synthetische Organextrakte beinhalten.

Erfindungsgemäß wurde ein neues Konzept zum Aufbau von wasserlöslichen, synthetischen Organextrakten entwickelt, mit denen mindestens das jeweilige Wirkungsspektrum eines entsprechenden Naturstoffextraktes erreicht wird, wobei jedoch die auf die Anwesenheit von pathogenen bzw. virulogen Proteinen, Protein-Abbauprodukten und Hormonen zurückzuführenden Beeinträchtigungen vermieden werden können. Ferner bezieht sich die Erfindung auf ein vorteilhaftes Verfahren zur Herstellung dieser synthetischen Organextrakte sowie auf deren Verwendung zur Herstellung von kosmetischen und medizinischen Formulierungen, die eine wirksame Menge dieser synthetischen Organextrakte enthalten. Die medizinischen Präparate mit solchen Wirkstoffen sind insbesondere zur topischen, subkutanen und/oder intramuskulären Applikation für die Zwecke der äußeren und inneren Wundheilung, zur Stärkung des Immunsystems bzw. zur Aktivierung des Zellstoffwechsels geeignet. Ferner werden die erfindungsgemäßen Organextrakte bevorzugt zur Herstellung gastroenterologischer Präparate zur Behandlung von Ulcera wie *Ulcus duodenum* verwendet.

Die erfindungsgemäßen synthetischen Organextrakte sind zudem wirksame Substitute oder Ergänzungen für eine Vielzahl von Naturstoffextrakten, insbesondere für Placenta-, Thymus-, Blut-, Blutserum-, Milz-, Leber-, Herzmuskel-, Elastin-, Kollagen-, Bindegewebs-, Amnionflüssigkeits-, Nabelschnur-, Quallen-, Rogen- und Euterextrakte sowie Kombinationen derselben.

Zahlreiche Organextrakte in mehr oder weniger naturbelassener Form stehen heute zur Verfügung, wie z. B. Blutserumextrakte, Placentaextrakte, Thymusextrakte, Kollagenextrakte und Bindegewebsextrakte, die in vielen Fällen durch niedermolekulare Zusätze ergänzt worden sind. Leider enthalten solche Präparate zumeist noch Proteine oder Protein-Abbauprodukte, die immunogene bzw. pathogene Eigenschaften aufweisen und bei regelmäßiger oder wiederholter Applikation — meistens verbunden mit sehr langen Inkubationszeiten — zu schwerwiegenden Erkrankungen führen können. Dabei wird insbesondere auf die durch unkonventionelle Viren und Prione wie z.B. BSE verursachten Krankheitsbilder Bezug genommen. Es sind auch proteinhaltige Placentaextrakte bekannt, die sich bei der Anwendung für den Menschen als krebserregend erwiesen haben.

Man hat versucht, Extraktpräparate proteinfrei herzustellen. So wird z. B. in der DE-PS 23 38 970 ein Verfahren zur Herstellung eines Placentaextraktes beschrieben, welcher frei von Lipoidbegleitstoffen und frei von Proteinen ist. Bei der Anwendung dieses Extraktes wurde jedoch eine erhebliche Beeinträchtigung des mit dem Naturstoff ursprünglich erzielten Wirkungsspektrums beobachtet. Der "synthetische" Weg einer Kombination niedermolekularer Komponenten in Anlehnung an die in entsprechenden Naturstoffextrakten gefundenen Zusammensetzungen ist ebenfalls beschränkt worden. So wird z. B. in der DE-AS 24 05 983 ein Verfahren zur Herstellung eines atemungsfördernden Präparates beschrieben, welches im wesentlichen aus niedermolekularen Komponenten sowie aus Zusätzen tierischen Ursprungs zusammengesetzt ist. Obwohl hiermit das Proteinproblem behoben werden konnte, ist mit den bisherigen Vorschlägen nur eine unzureichende Annäherung an einzelne Eigenschaften von natürlichen Organextrakten gelungen. Dies mag bei bestimmten Anwendungen wie im Bereich des Futtermittel- und Nährstoffsektors hinnehmbar sein. Insbesondere bei kosmetischen und medizinischen Anwendungen wird aber gerade ein wirksames physiologisches Aktivitätsprofil gewünscht, das mit den bisher bekannten Zusammensetzungen synthetischer oder halbsynthetischer Natur nicht oder nur unzureichend geschaffen werden konnte. Ein allgemeines und standardisierbares Konzept zum Aufbau synthetischer Organextrakte fehlte bisher.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zu Grunde, synthetische Organextrakte zu schaffen, die das biochemische Wirkungsprofil von natürlichen Organextrakten mindestens erreichen, vorzugsweise jedoch noch wesentlich verbessern, andererseits aber frei sind von ggfs. vorhandenen immunogenen bzw. pathogenen Proteinen und Protein-Abbauprodukten. Diese synthetischen Organextrakte sollten wesentlich einfacher und reproduzierbar herzustellen sowie in pyrogenfreier Form zugänglich sein. Insbesondere gilt dies für die Verwendung der erfindungsgemäßen synthetischen Organextrakte zur Herstellung von kosmetischen und medizinischen Formulierungen.

Zur Lösung der Aufgabe werden die erfindungsgemäßen synthetischen Organextrakte gemäß Hauptanspruch vorgeschlagen, welche mindestens eine Aminosäurekomponente (a) mit monomeren Aminosäuren, eine Peptidkomponente (b) mit peptidgebundenen Aminosäuren, eine Nucleinsäurekomponente (c), eine Kohlenhydratkomponente und/oder Kohlenhydratderivatkomponente (d), eine aliphatische Carbonsäure mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen (e), einen aliphatischen und/oder aromatischen Alkohol mit 2 bis 7 Kohlenstoffatomen (f), sowie gegebenenfalls Vitamine (g), Mineralsalze und/oder Spurenelemente (h), Puffersubstanzen (i) und Konservierungsstoffe (k) enthalten.

Die Aminosäurekomponente (a) und die Peptidkomponente (b) werden erfindungsgemäß vorwiegend aus Aminosäuren bzw. Aminosäurebausteinen der folgenden Gruppen gebildet: (I) Glycin, L-Prolin, L-Hydroxyprolin, L-Alanin, (II) L-Glutaminsäure, L-Asparaginsäure, L-Asparagin, (III) L-Arginin, L-Serin, L-Lysin. Diese Aminosäuren in monomerer und/oder peptidgebundener Form sind in der Gesamtmenge der Aminosäuren der Komponenten (a) und (b) in einer Menge von mindestens 60 Mol-% enthalten, wobei sich die Summe aus (I), (II) und (III) zu mindestens 60 Mol-% aus Aminosäure(n) der Gruppe (I), zu mindestens 10 Mol-% aus Aminosäure(n) der Gruppe (II) und zu mindestens 5 Mol-% aus Aminosäuren der Gruppe (III) unter der Maßgabe zusammensetzt, daß I + II + III zusammen 100 Mol-% bilden.

Es wurde überraschenderweise gefunden, daß insbesondere die vorstehenden Auswahlkriterien für die Wirksamkeit eines synthetischen Organextraktes wesentlich sind. Mit einer auf diesen Kriterien aufbauenden Zusammensetzung wurde ein generalisierbares Konzept für den Aufbau eines synthetischen Organextraktes gefunden, das je nach Anwendungsrichtung nur geringfügig modifiziert zu werden braucht, um das vollständige Wirkungs-

profil des jeweiligen Organextraktes natürlichen Ursprungs zu erreichen.

Der größte Anteil der Aminosäuren wird von solchen aus der Gruppe (I) gestellt, die sowohl in monomerer (a) als auch in peptidgebundener Form (b) vorliegen können. Dabei ist Glycin vorzugsweise mit 8 bis 48 Mol.-%, in besonders bevorzugter Weise mit mindestens 10 Mol.-% in der Gesamt-Aminosäuremenge aus (a) und (b) vertreten, während Prolin und Hydroxyprolin zusammen vorzugsweise in einer Menge von 7 bis 25 Mol.-% und Alanin vorzugsweise in einer Menge von 3 bis 18 Mol.-% vorliegen. In besonders bevorzugter Weise beträgt der Anteil der Aminosäuren aus der Gruppe (I) in der Komponente (a) und/oder der Komponente (b) mindestens 75 Mol.-%.

Der Begriff "Peptid" umfaßt in vorliegender Beschreibung Oligopeptide mit bis zu 10 verknüpften Aminosäuren sowie Polypeptide mit einer Kettenlänge von bis zu 100 verknüpften Aminosäuren.

Der Anteil der peptidgebundenen Aminosäuren (b) kann, bezogen auf die Gesamtmenge aus monomeren (a) und peptidgebundenen (b) Aminosäuren, 0,01 bis 85 Gew.-% betragen.

Der Anteil der peptidgebundenen Aminosäuren (b) beträgt, bezogen auf die Gesamtmenge aus monomeren (a) und peptidgebundenen (b) Aminosäuren, 0,01 bis 5 Gew.-%, vorzugsweise 0,1 bis 1,5 Gew.-%, sofern die Peptidkomponente nur Peptide mit weniger als 10 Aminosäureverknüpfungen aufweist, sich also im wesentlichen nur aus Oligopeptiden zusammensetzt. Sofern die Peptidkomponente (b) auch Polypeptide mittlerer Kettenlänge einschließt, beträgt der Peptidanteil je nach Anzahl und Größe der Polypeptide vorzugsweise 5 bis 20 Gew.-%. Ein besonders günstiges Zusammenwirken von monomeren und peptidgebundenen Aminosäuren hat sich dann gezeigt, wenn der Anteil der in Polypeptiden mit einer Kettenlänge von bis zu 100 gebundenen Aminosäuren an der Aminosäure-Gesamtmenge der Komponenten (a) und (b) im Bereich von 20 bis 85 Gew.-% liegt.

Erfindungsgemäß hat sich gezeigt, daß vor allem die Oligopeptide mit Aminosäuren aus den Gruppen I, II und III die wirksamsten Aktivbestandteile der Peptidkomponente (b) sind.

Die Dominanz der vorstehenden Aminosäuren bedeutet im Hinblick auf die Zusammensetzung der erfindungsgemäßen synthetischen Extrakte, daß die Komponente (b) bestimmte Aminosäuren wie z. B. Serin, Arginin, Lysin, Prolin und/oder Hydroxyprolin in Mengen enthält, die weit über dem Gehalt dieser Aminosäuren in dem entsprechenden Naturextrakt liegen, d. h. in einer 2- bis 15-fachen Menge. Insbesondere bei der Peptidkomponente (b) und speziell bei den in ihr enthaltenen Oligopeptiden hat sich gezeigt, daß Peptide, die mindestens zwei der folgenden Aminosäuren aufweisen, besonders aktiv sind: Serin, Arginin, Lysin, Prolin, Hydroxyprolin und Histidin.

Ferner ist es besonders bevorzugt, daß die Komponente (b) im wesentlichen Tri- bis Hexapeptide, Salze derselben und/oder Metallkomplexe derselben aufweist.

Innerhalb der Gruppe (II) ist vorzugsweise Glutaminsäure mit vorzugsweise 3,5 bis 9,5 Mol.-% vorhanden, während Asparaginsäure bevorzugt mit einem Gehalt von etwa 2,0 bis 7,0 Mol.-% enthalten ist. Der Anteil der Aminosäuren aus der Gruppe (III) liegt zumeist bedeutend höher als in dem zu ersetzenden Organextrakt. Arginin ist innerhalb dieser Gruppe bevorzugt mit 3,5 bis 5,5 Mol.-%, Serin mit 2,5 bis 3,5 Mol.-% und Lysin mit 2,0 bis 3,0 Mol.-% enthalten.

Andere Aminosäuren können in monomerer und/oder peptidgebundener Form anwesend und beispielsweise aus der folgenden Zusammenstellung ausgewählt sein.

Geeignete Aminosäuren und Aminosäurederivate sind Asparagin, Asparaginsäure, Cystein, Cystin, Glutaminsäure, Glutamin, alpha-Alanin, beta-Alanin, Arginin, Glycin, Histidin, delta-Hydroxylysine, Hydroxyproline, Leucin, Isoleucin, Lysin, Methionin, Norleucin, Phenylalanin, Prolin, Serin, Threonin, Tryptophan, Tyrosin, Valin, alpha-Aminoadipinsäure, alpha-Aminobuttersäure (normal), gamma-Amino-n-buttersäure, beta-Aminoisobuttersäure, delta-Aminolävulinsäure, Carbamylasparaginsäure, Citrullin, Kreatin, Kreatinin, Cystathionin, Cysteinsäure, Ergothionein (Betain des Thiohistidins), Glycoeyamin (Guinidinessigsäure), Homoserin, Ornithin, Taurin, Djenkolsäure (Cysteinthioformacetal), Guanidinsalze, Ornithursäure, Phenacetursäure, Hippursäure, Harnstoff, N-Acetyl-L-alanin, N-Acetyl-L-arginin, N-Acetyl-L-glycin, N-Acetyl-L-hydroxyprolin, N-Acetyl-L-isoasparagin, N-Acetyl-L-isoleucin, N-Acetyl-L-leucin, N-Acetyl-L-lysin, N-Acetyl-L-methionin, N-Acetylmuraminsäure, N-Acetyl-L-ornithin, N-Acetyl-L-phenylalanin, N-Acetyl-L-prolin, O-Acetyl-L-serin, N-Acetyl-L-threonin, N-Acetyl-L-tryptophan, N-Acetyl-L-valin, L-allo-Isoleucin, L-allo-Threonin, N-Benzoyl-D-alanin, N-Benzoyl-L-arginin, N-Benzoyl-L-histidin, N-Benzoyl-L-lysin, N-Benzoyl-L-methionin, N-Benzoyl-L-ornithin, N-Benzoyl-L-phenylalanin, N-Benzoyl-L-tryptophan, N-Benzoyl-L-valin, S-Benzoyl-L-cystein, O-Benzoyl-L-serin, O-Benzoyl-L-tyrosin, L-Carnosin ( $\beta$ -Alanyl-L-histidin), N,O-Diacetyl-L-threonin, O-Phospho-L-serin, O-Phospho-D-serin.

Die einzelnen Aminosäuren und deren Derivate werden in der erfindungsgemäßen Zusammensetzung in Mengen verwendet, die im Bereich von 0,01 bis 20 g/l synthetischer Extraktlösung liegen. Bevorzugt enthält der synthetische Organextrakt als wäßrige Lösung etwa 0,5 bis 50 g/l monomere Aminosäuren aus der Gruppe bestehend aus Glycin, Prolin, Serin, Lysin, Arginin und Hydroxyprolin. Im allgemeinen enthält die erfindungsgemäße Zusammensetzung Aminosäuregemische, welche geeigneterweise aus Proteinhydrolysaten bzw. Proteinpartialhydrolysaten, wie z. B. Sojabohnen-, Gluten-, Edestin- und Fibrinhydrolysaten, Hefeproteinhydrolysaten, partiell dehydratisierten Hefen und ihre Partialhydrolysate sowie Peptonen und Peptonhydrolysaten gewonnen werden. Die Konzentration der einzelnen Aminosäuren wird selbstverständlich durch ihre Löslichkeitsgrenzen begrenzt. Es ist zum Beispiel zweckmäßig, Cystein in einer Menge von 0,01 bis 0,03 g/l Gesamtansatz zu verwenden. Es wird bevorzugt, Lysin, Prolin, Serin, Arginin und Glycin in Mengen von 0,15 bis 20 g/l zu verwenden, während die anderen Aminosäuren der vorstehenden Auflistung in Mengen von 0,01 bis 0,8 g/l enthalten sind.

Der Anteil der neutralen Aminosäuren zu den basischen und sauren Aminosäuren beläuft sich auf 15:1 bis 5:1 (Gewichtsverhältnis). Bevorzugt beträgt der Anteil der Aminosäuren aus Proteinhydrolysaten und Peptonhydro-

drolysaten sowie ihren Partialhydrolysaten mindestens 40 Gew.% und bevorzugt etwa 50 bis 70 Gew.% der Gesamtaminosäuren. Spezielle Aminosäuregemische werden in den Beispielen erläutert.

Obwohl Histidin keine zwingende Aminosäurekomponente des erfindungsgemäßen synthetischen Organextraktes darstellt, wird seine Anwesenheit vorzugsweise auf Mengen von etwa 0,15 bis 4,5 Mol-%, bezogen auf die Gesamtmenge der monomeren (a) und peptidgebundenen (b) Aminosäuren, eingestellt. Histidin ist besonders als Peptidaminosäure wichtig, speziell dann, wenn Oligopeptide einen maßgeblichen Anteil der Peptidkomponente (b) bilden. Möglicherweise hängt die Wirksamkeit von Histidin u. a. auch mit dem Komplexbindungsvermögen für Metallionen zusammen.

Beispiele für geeignete Peptide sind

- 10 N-Acetyl-L-alanyl-L-alanin, N-Acetyl-L-alanyl-L-alanyl-L-alanin, N-Acetyl-Ala-Ala-Ala-Ala, N-Acetyl-D-alanyl-D-glutaminsäure, N-Acetyl-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu, N-Acetyl-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu, N-Acetyl-Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Leu-Val-Tyr-Ser, N-Acetyl-L-aspartyl-L-glutaminsäure, N-Acetyl-L-glutaminylglycin, N-Acetyl-Glycylglycin, N-Acetylglucyl-L-leucin,
- 15 N-Acetyl-L-histidylglycyl-L-histidin, N-Acetyl-His-His-Gly-His, N-Acetyl-L-leucylglycin, N-Acetyl-L-methionyl-L-alanyl-L-serin, N-Acetyl-L-methionyl-L-glutaminsäure, N-Acetyl-L-phenylalanyl-L-phenylalanin, N-Acetyl-L-phenylalanyl-L-tryptophan, N-Acetyl-L-Phenylalanyl-L-tyrosin, N-Acetyl-Pro-β-Ala-Pro-β-Ala-Pro-β-Ala-Pro-β-Ala, N-Acetyl-L-prolyl-L-leucylglycin, N-Acetyl-L-serylglycin, N-Acetyl-L-tyrosyl-L-phenylalanin,
- 20 N-Acetyl-L-tyrosyl-L-tyrosin, N-Acetyl-muramyl-L-alanyl-L-isoglutamin, L-Alanyl-L-alanin, β-Alanyl-β-alanin, L-Alanyl-L-alanyl-L-alanin, Ala-Ala-Ala-Ala, Ala-Ala-Ala-Ala-Ala, Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala, Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala, Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala, Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Ala-Glu, Ala-Ala-Ala-Ala-D-Glu, Ala-Ala-Ala-Ala-Glu-Glu-Glu, Ala-Ala-Ala-Ala-Glu-Glu-Glu-Glu-Glu, Ala-Ala-Ala-Ala-Tyr-Ala,
- 25 Ala-Ala-Ala-Pro, Ala-Ala-Ala-Pro-Ala, Ala-Ala-Ala-Pro-Ala-Ala, Ala-Ala-Ala-Tyr, Ala-Ala-Ala-Tyr-Ala, Ala-Ala-Ala-Tyr-Ala-Ala, L-Alanyl-L-alanylglycin, L-Alanyl-L-alanyl-L-lysin, L-Alanyl-L-alanyl-L-prolin, Ala-Ala-Pro-Ala, Ala-Ala-Pro-Ala-Ala, Ala-Ala-Pro-Tyr-Ala, L-Alanyl-L-alanyl-L-tyrosin, Ala-Ala-Tyr-Ala, Ala-Ala-Tyr-Ala-Ala, Ala-Arg-Pro-Ala-Lys, β-Ala-Arg-Ser-Ala-Pro-Thr-Pro-Met-Ser-Pro-Tyr, L-Alanyl-L-asparagin, L-Alanyl-L-asparaginsäure, L-Alanyl-L-glutaminsäure, L-Alanyl-L-glutamin,
- 30 L-Alanylglycin, L-Alanylglycyl-L-alanin, β-Alanylglycyl-L-alanin, Ala-Gly-Gly-Asp-Ala-Ser-Gly-Gly, Ala-Gly-Gly-Gly, Ala-Gly-Gly-Gly-Gly, L-Alanyl-L-histidin, β-Alanyl-L-histidin, β-Alanyl-L-leucin, L-Alanyl-L-leucyl-L-alanin, Ala-Leu-Ala-Gly, Ala-Leu-Ala-Leu, L-Alanyl-L-lysin, L-Alanyl-L-methionin, L-Alanyl-L-norvalin, L-Alanyl-L-phenyl-alanin, β-Alanyl-L-phenylalanin, L-Alanyl-L-phenylalanyl-L-alanin, L-Alanyl-L-phenylalanyl-L-prolin, L-Alanyl-L-prolin, L-Alanyl-L-prolyl-L-alanin, Ala-Pro-Arg-Val-Asp,
- 35 L-Alanyl-L-prolyl-L-phenyl-alanin, Ala-Pro-Tyr-Ala, L-Alanyl-L-serin, L-Alanyl-L-serylglycin, Ala-Ser-His-Leu-Gly-Leu-Ala-Arg, L-Alanyl-L-threonin, L-Alanyl-L-tyrosin, L-Alanyl-L-tyrosyl-L-alanin, L-alanyl-L-valin, L-Alanyl-L-valyl-L-leucin, L-Aminobutyryl-L-tyrosin, Arg-Arg-Gly-Asp-Met-Glu, L-Arginyl-L-asparaginsäure, L-Arginyl-L-glutaminsäure, Arg-Gly-Phe-Phe, Arg-Gly-Pro-Phe-Pro-Ile, Arg-Gly-Tyr-Ala-Leu-Gly, Arg-Gly-Val-Phe-Arg, Arg-Gly-Val-Phe-Arg-Arg, Arg-Tyr-Leu-Gly-Tyr-Leu,
- 40 Arg-Tyr-Leu-Gly-Tyr-Leu-Glu, L-Asparaginyll-L-valin, L-Aspartyl-β-alanin, L-β-Aspartyl-L-alanin, Asp-Ala-His-Lys, Asp-Ala-Ser-Gly-Glu, L-Aspartyl-L-glutaminsäure, L-Aspartyl-L-glutamin, L-Aspartylglycin, L-Aspartyl-L-leucin, L-Aspartyl-L-lysin, L-Aspartyl-L-ε-lysin, L-Aspartyl-L-phenylalanin, Asp-Ser-Asp-Pro-Arg, L-Aspartyl-L-tryptophan, Asp-Tyr-Met-Gly, L-Aspartyl-L-valin, L-Cysteinylglycin, L-Cystinyl-bis-L-alanin, L-Cystinyl-bis-glycin, L-Cystinyl-bis-L-leucin, L-Cystinyl-bis-L-phenylalanin,
- 45 L-Cystinyl-bis-L-prolin, L-Cystinyl-bis-L-tyrosin, L-Cystinyl-bis-L-valin, Gly-Gly-Phe-Leu, Gly-Gly-Phe-Met, Ala-Gly-Ser-Glu, Val-Gly-Asp-Glu, Val-Gly-Ser-Glu, Gly-His-Lys, L-Glutaminyll-L-valin, L-Glutaminyll-L-alanin, L-γ-Glutamyl-L-alanin, L-Glutamyl-L-alanyl-L-alanin, L-Glutamyl-L-asparaginsäure, L-Glutamyl-L-glutaminsäure, L-Glutamyl-L-glutamin, L-Glutamyl-L-glutaminsäure, L-Glutamylglycin, L-Glutamylglycyl-L-phenylalanin, L-Glutamyl-L-lysin, L-Glutamyl-L-ε-lysin, L-γ-Glutamyl-L-lysin,
- 50 L-γ-Glutamyl-L-methionin, Glu-Pro-Glu-Thr, L-Glutamyl-L-serin, L-Glutamyl-L-threonin, L-Glutamyl-L-threonyl-L-tyrosin, L-Glutamyl-L-tyrosin, L-Glutamyl-L-tyrosin, L-Glutamyl-L-valin, L-γ-Glutamyl-L-valin, L-Glutamyl-L-valyl-L-phenylalanin, Glycyl-L-alanin, Glycyl-DL-alanin, Glycyl-β-alanin, Glycyl-β-alanyl-β-alanin, Glycyl-L-alanyl-L-asparaginsäure, Glycyl-L-alanylglycin, Glycyl-L-alanyl-L-hydroxyprolin, Glycyl-L-alanyl-L-leucin, Glycyl-L-alanyl-L-phenylalanin, Glycyl-L-arginin,
- 55 Gly-Arg-Gly-Asp, Glycyl-L-asparagin, Glycyl-L-asparaginsäure, Glycyl-L-glutaminsäure, Gly-Gln-Pro-Arg, Glycylglycin, Glycylglycin-L-arginin, Gly-Lys-His, Gly-Ala-Pro, Gly-His-Arg, Gly-Gly-Asp-Ala, Gly-Gly-Asp-Ala-Ser-Gly-Glu, Glycylglycyl-L-cystein, Gly-Gly-Gln-Ala, Gly-Gly-Glu-Ala, Glycylglycylglycin, Gly-Gly-Gly-Ala, Gly-Gly-Gly-Gly, Gly-Gly-Gly-Gly-Ala, Gly-Gly-Gly-Gly-Gly, Gly-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly, Gly-Gly-Gly-Ser, Glycylglycyl-L-histidin, Gly-Gly-His-Ala, Gly-Gly-His-Gly, Glycylglycyl-L-leucin,
- 60 Glycylglycyl-L-prolin, Gly-Gly-Pro-Ala, Glycylglycyl-L-tryptophan, Gly-Gly-Trp-Ala, Glycylglycyl-L-valin, Glycyl-L-histidin, Glycyl-L-hydroxyprolyl-L-alanin, Glycyl-L-hydroxyprolyl-L-serin, Glycyl-L-isoleucin, Gly-Leu-Gly-Leu, Gly-Leu-Leu-Gly, Glycyl-L-methionin, Glycyl-DL-norleucin, Glycyl-L-phenylalanin, Glycyl-L-phenylalanyl-L-alanin, Glycyl-L-phenylalanyl-L-leucin, Glycyl-L-phenylalanyl-L-phenylalanin, Glycyl-L-phenylalanyl-L-serin, Glycyl-L-prolin, Glycyl-L-propyl-L-alanin, Gly-Pro-Gly-Gly,
- 65 Glycyl-L-prolyl-L-hydroxyprolin, Glycyl-L-prolyl-L-prolin, Glycyl-L-serin, Glycyl-L-seryl-L-alanin, Glycyl-L-threonin, Glycyl-L-tryptophan, Gly-Trp-Gly-Gly, Glycyl-L-tyrosyl-L-alanin, Glycyl-L-tyrosylglycin, Glycyl-L-valin, L-Histidyl-L-alanin, L-Histidyl-L-arginin, L-Histidyl-L-asparaginsäure, L-Histidylglycyl-L-lysin, L-Histidyl-L-leucin, L-Histidyl-L-methionin, L-Histidyl-D-phenylalanin, L-Histidyl-L-prolin, L-Histidyl-L-Serin,

L-Histidyl-L-tryptophan, L-Histidyl-L-tryptophyl-L-lysin, L-Histidyl-L-tyrosin, L-Histidyl-L-valin,  
 L-Hydroxyprolylglycin, L-Isoleucyl-L-alanin, L-Isoleucyl-L-asparagin, L-Isoleucyl-L-glutamin, L-Isoleucylglycin,  
 L-Isoleucylglycylglycin, L-Isoleucyl-L-histidin, L-Isoleucyl-L-isoleucin, L-Isoleucyl-L-isoleucyl-L-isoleucin,  
 L-Isoleucyl-L-leucin, L-Isoleucyl-L-methionin, L-Isoleucyl-L-phenylalanin, L-Isoleucyl-L-serin,  
 L-Isoleucyl-L-tryptophan, L-Isoleucyl-L-tyrosin, L-Isoleucyl-L-valin, L-Leucyl-L-alanin, L-Leucyl- $\beta$ -alanin, 5  
 L-Leucyl-L-alanyl-L-prolin, L-Leucyl-L-asparagin, L-Leucyl-L-asparaginsäure, L-Leucylglycin,  
 L-Leucylglycylglycin, L-Leucylglycyl-L-leucin, L-Leucylglycyl-L-prolin, L-Leucylglycyl-L-tyrosin,  
 L-Leucyl-L-histidin, L-Leucyl-L-isoleucin, L-Leucyl-L-leucyl-L-alanin, L-Leucyl-L-leucylglycin,  
 L-Leucyl-L-phenylalanin, Leu-Leu-Val-Phe, Leu-Leu-Val-Tyr, L-Leucyl-L-methionin, L-Leucyl-L-phenylalanin,  
 L-Leucyl-L-serin, Leu-Trp-Met-Arg, Leu-Trp-Met-Arg-Phe, L-Leucyl-L-tyrosin, D-Leucyl-L-tyrosin, 10  
 L-Leucyl-L-valin, Lys-Ala-Phe-Gly, L-Lysyl-L-asparaginsäure, L-Lysyl-L-glutaminsäure,  
 Lys-Glu-Thr-Tyr-Ser-Lys, L-Lysyl-L-prolyl-L-arginin, L-Lysyl-L-threonyl-L-tyrosin, L-Lysyl-L-tryptophan,  
 L-Lysyl-L-tyrosin, L-Lysyl-L-tyrosyl-L-glutaminsäure, L-Lysyl-L-tyrosyl-L-serin, L-Lysyl-L-tyrosyl-L-threonin,  
 Lys-Val-Glu-Gln-Glu-Gly-Tyr, L-Methionyl-L-alanin, L-Methionyl-L-alanyl-L-serin, L-Methionyl-L-asparagin,  
 L-Methionyl-L-asparaginsäure, Met-Cys-Glu-Lys, L-Methionyl-L-glutaminsäure, L-Methionyl-L-glutamin, 15  
 L-Methionylglycylglycin, Met-Gly-Met-Met, L-Methionyl-L-histidin, L-Methionyl-L-histidylglycin,  
 L-Methionyl-L-Isoleucin, L-Methionyl-L-isoleucylglycin, L-Methionyl-L-leucin, L-Methionyl-L-leucylglycin,  
 L-Methionyl-L-methionin, L-Methionyl-L-methionyl-L-alanin, L-Methionyl-L-methionyl-L-methionin,  
 L-Methionyl-L-prolin, L-Methionyl-L-prolylglycin, L-Methionyl-L-serin, L-Methionyl-L-serylglycin,  
 L-Methionyl-L-threonin, L-Methionyl-L-tyrosin, L-Methionyl-L-valin, L-Ornithyl-L-asparaginsäure, 20  
 L-Ornithyl-L-ornithyl-L-ornithin, L-Phenylalanyl-L-alanin, L-Phenylalanyl- $\beta$ -alanin,  
 L-Phenylalanyl-L-alanyl-L-asparagin, L-Phenylalanyl-L-arginin, L-Phenylalanyl-L-glutaminsäure,  
 Phe-Gln-Gly-Pro, Phe-Gly-Gly-Phe, Phe-Gly-Phe-Gly, L-Phenylalanyl-L-isoleucin, L-Phenylalanyl-L-leucin,  
 Phe-Leu-Glu-Glu-Ile, Phe-Leu-Glu-Glu-Leu, Phe-Leu-Glu-Glu-Val, L-Phenylalanyl-L-methionin,  
 Phe-Met-Leu-Pro, L-Phenylalanyl-L-phenylalanin, L-Phenylalanyl-L-phenylalanyl-L-phenylalanin, 25  
 Phe-Phe-Phe-Phe, Phe-Phe-Phe-Phe-Phe, L-Phenylalanyl-L-prolin, L-Phenylalanyl-L-serin,  
 L-Phenylalanyl-L-seryl-L-valin, L-Phenylalanyl-L-tryptophan, L-Phenylalanyl-L-tyrosin, L-Phenylalanyl-L-valin,  
 Poly-L-alanin, Polyglycin, Poly-L-leucin, Poly-L-valin, L-Prolyl-L-alanin, L-Prolyl-L-arginin,  
 L-Prolyl-L-asparagin, L-Prolyl-L-asparaginsäure, L-Prolyl-L-glutaminsäure, L-Prolyl-L-glutamin,  
 Pro-Glu-Pro-Glu-Thr, L-Prolyl-L-histidyl-L-alanin, L-Prolyl-L-histidyl-L-asparaginsäure, 30  
 L-Prolyl-L-histidyl-L-glutaminsäure, L-Prolyl-L-histidylglycin, L-Prolyl-L-histidyl-L-leucin,  
 L-Prolyl-L-histidyl-L-phenylalanin, L-Prolyl-L-histidyl-L-tyrosin, L-Prolyl-L-histidyl-L-valin,  
 L-Prolyl-L-hydroxyprolin, L-Prolyl-L-isoleucin, L-Prolyl-L-leucin, Pro-Leu-Gly-Gly,  
 Pro-Lys-Lys-Ala-Thr-Glu-Leu-Lys, L-Prolyl-L-methionin, L-Prolyl-L-phenylalanin,  
 L-Prolyl-L-phenylalanyl-L-asparaginsäure, L-Prolyl-L-prolyl-L-prolin, Pro-Pro-Pro-Pro, L-Prolyl-L-serin, 35  
 L-Prolyl-L-tryptophan, L-Prolyl-L-tyrosin, L-Prolyl-L-tyrosyl-L-alanin, L-Prolyl-L-valin, Sarcosyl-L-alanin,  
 Sarcosyl-L-asparaginsäure, Sarcosylglycin, Sarcosylglycylglycin, Sarcosyl-L-isoleucin, Sarcosyl-L-leucin,  
 Sarcosyl-L-tyrosin, Sarcosyl-L-valin, L-Seryl-L-alanin, L-Seryl- $\beta$ -alanin, L-Seryl-L-asparaginsäure,  
 L-Seryl-L-glutamylglycin, L-Serylglycin, L-Serylglycylglycin, L-Seryl-L-histidin, L-Seryl-L-leucin,  
 L-Seryl-L-leucyl-L-leucin, L-Seryl-L-methionin, L-Seryl-L-phenylalanin, L-Seryl-L-prolin, L-Seryl-L-serin, 40  
 L-Seryl-L-seryl-L-serin, L-Seryl-L-tyrosin, L-Seryl-L-tyrosyl-L-lysin, Ser-Tyr-Ser-Met,  
 Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly, N-Succinyl-L-alanyl-L-alanyl-L-valin, N-Succinyl-L-prolin,  
 L-Threonyl-L-alanin, L-Threonyl- $\beta$ -alanin, L-Threonyl-L-arginin, L-Threonyl-L-asparagin,  
 L-Threonyl-L-asparaginsäure, L-Threonyl-L-glutamin, L-Threonylglycin, L-Threonylglycylglycin,  
 L-Threonyl-L-leucin, L-Threonyl-L-methionin, Thr-Pro-Arg-Lys, L-Threonyl-L-prolyl-L-lysin, 45  
 L-Threonyl-L-serin, L-Threonyl-L-tyrosyl-L-lysin, Thr-Tyr-Ser-Lys, L-Tryptophyl-L-alanin,  
 L-Tryptophyl-L-asparaginsäure, L-Tryptophyl-L-glutaminsäure, L-Tryptophylglycin, Trp-Gly-Gly-Tyr,  
 Trp-Gly-Gly-Tyr, L-Tryptophylglycyl-L-tyrosin, L-Tryptophyl-L-leucin, L-Tryptophyl-L-prolin,  
 Trp-Pro-Pro-Pro-Tyr, Trp-Pro-Pro-Tyr, L-Tryptophyl-L-serin, L-Tryptophyl-L-tryptophan,  
 L-Tryptophyl-L-tryptophyl-L-tryptophan, L-Tryptophyl-L-tyrosin, L-Tryptophyl-L-valin, L-Tyrosyl-L-alanin, 50  
 L-Tyrosyl-L-alanyl-L-phenylalanin, Tyr-Asp-Asp-Val-Glu-Ser-Asp-Gly-Ala-Val, L-Tyrosyl-L-glutaminsäure,  
 L-Tyrosyl-L-glutamin, Tyr-Glu-Glu-Trp, L-Tyrosyl-L-glutamyl-L-tryptophan, L-Tyrosylglycin,  
 L-Tyrosylglycyl-L-tryptophan, L-Tyrosyl-L-histidin, L-Tyrosyl-L-isoleucin, L-Tyrosyl-L-leucin,  
 L-Tyrosyl-L-lysin, Tyr-Lys-Lys-Gly-Glu, L-Tyrosyl-L-lysyl-L-threonin, L-Tyrosyl-L-lyl-L-tryptophan,  
 L-Tyrosyl-L-Phenylalanin, L-Tyrosyl-L-prolin, Tyr-Pro-Phe-Pro, Tyr-Pro-Pro-Glu-Pro-Glu-Thr, 55  
 L-Tyrosyl-L-threonyl-L-leucin, L-Tyrosyl-L-threonyl-L-lysin, L-Tyrosyl-L-tryptophan, L-Tyrosyl-L-tyrosin,  
 L-Tyrosyl-L-tyrosyl-L-leucin, L-Tyrosyl-L-tyrosyl-L-phenylalanin, L-Tyrosyl-L-valin, L-Tyrosyl-L-valin,  
 L-Valyl-L-alanin, L-Valyl- $\beta$ -alanin, Val-Ala-Ala-Phe, L-Valyl-L-arginin, L-Valyl-L-asparagin,  
 L-Valyl-L-asparaginsäure, L-Valyl-L-glutaminsäure, L-Valylglycin, L-Valylglycylglycin, Val-His-Leu-Thr-Pro,  
 L-Valyl-L-isoleucin, L-Valyl-L-leucin, L-Valyl-L-leucyl-L-serin, Val-Leu-Ser-Glu-Gly, L-Valyl-L-lysin, 60  
 L-Valyl-L-methionin, L-Valyl-L-norleucin, L-Valyl-L-phenylalanin, L-Valyl-L-prolin, L-Valyl-L-prolyl-L-leucin,  
 L-Valyl-L-serin, L-Valyl-L-tryptophyl-L-isoleucin, L-Valyl-L-tyrosin, Val-Tyr-Ile-His-Pro,  
 L-Valyl-L-tyrosyl-L-prolin, L-Valyl-L-tyrosyl-L-valin, L-Valyl-L-valin, L-Valyl-L-valyl-L-glutaminsäure,  
 L-Valyl-L-valyl-L-glutamin, L-Valyl-L-valylglycin, L-Valyl-L-valyl-L-phenylalanin, L-Valyl-L-valyl-L-tyrosin,  
 L-Valyl-L-valyl-L-valin, Val-Val-Val-Val, Val-Val-Val-Val-Val, Val-Val-Val-Val-Val-Val. 65

Bei der Herstellung von synthetischen Placentaextrakten haben sich insbesondere die Peptidfragmente Arg-  
 Gly-Asp-Ser, Gly-Arg-Gly-Asp, Gly-Arg-Gly-Asp-Ser, Gly-Arg-Gly-Asp-Ser-Pro, Gly-Arg-Gly-Asp-Ser-Pro-  
 Lys, Gly-Arg-Gly-Asp-Thr-Pro, Gly-His-Lys, Gly-His-Pro und Glutathion als vorteilhaft erwiesen.

Bei der Herstellung eines kombinierten synthetischen Serum-/Placentaextraktes werden bevorzugt die Peptidfragmente Arg-Gly-Val-Phe-Arg-Arg, Arg-Gly-Val-Phe-Pro, Arg-Gly-Val-Phe-Ser, Arg-Gly-Phe-Arg, Arg-Gly-Val-Phe-Pro, Arg-Gly-Val-Phe-Arg-Val-Arg und Arg-Gly-Val-Phe-Arg-Pro verwendet.

Bei der Herstellung von synthetischen Thymusextrakten werden bevorzugt die Peptidfragmente Gly-Pro-His, Gly-Lys-His, Gly-His-Lys, Gly-Ala-His, Glutathion, Gly-Pro-Hyp, Gly-Val-His, Gly-His-Pro, Gly-His-His-Gly-His-Lys, Gly-Pro-Hyp-Gly-His-Val und Gly-Pro-His-Gly-Pro-His verwendet.

Vorteilhaft ist, wenn der erfindungsgemäße synthetische Organextrakt neben den Aminosäuren und Peptiden noch eine zusätzliche Stickstoffquelle in einer bevorzugten Menge von 2,5 bis 25 Gew.-% enthält, bezogen auf die Gesamtmenge der monomeren (a) und peptidgebundenen Aminosäuren (b). Hierzu gehören insbesondere Harnstoff, Cysteamin und N-Methylglucamin. In manchen Fällen ist auch die Anwesenheit von Kreatinin günstig, vorzugsweise in einer Menge von 0,05 bis 1,0 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtmenge aus monomeren (a) und peptidgebundenen (b) Aminosäuren.

Die Nucleinsäurekomponente (c) umfaßt Purin- und Pyrimidinbasen, Nucleotide und Nucleoside sowie deren Derivate. Beispiele für geeignete Verbindungen aus dieser Gruppe sind 2-Aminopurin, Hypoxanthin, 1-Methylhypoxanthin, Adenin, 2-Methyladenin, 6-Methylaminopurin, Guanin, 1-Methylguanin, 7-Methylguanin, 2-Methylamino-6-oxodihydropurin, 8-Hydroxyguanin, Isoguanin, 2,6-Diaminopurin, Xanthin, 1-Methylxanthin, 3-Methylxanthin, 7-Methylxanthin, 3,9-Dimethylxanthin, Harnsäure, 1-Methylharnsäure, 9-Methylharnsäure, 1,9-Dimethylharnsäure, 3,7-Dimethylharnsäure, 1,3,7-Trimethylharnsäure, Adenosin, 3'-Amino-3'-desoxy-adenosin, 9- $\beta$ -D-Ribofuranosyl-6-methylaminopurin, 2'-Desoxyinosin, 2'-Adenylsäure, 3'-Adenylsäure, 5'-Adenylsäure, Adenosin-5'-diphosphorsäure, Adenosin-5'-triphosphorsäure, Desoxyadenylsäure, 2'-Desoxyadenosin-5'-triphosphat, N-Succinyladenylsäure, 3'-Guanylsäure, Guanosin-5'-diphosphorsäure, Guanosin-5'-triphosphorsäure, Inosin-3'-phosphorsäure, Inosin-5'-phosphorsäure, Inosin-5'-diphosphorsäure, Xanthylsäure, Xanthosin-5'-monophosphorsäure, Guanosindiphosphat-mannose, Guanosindiphosphat-fructose, Guanosindiphosphat-fucose, Diphosphopyridinnucleotid, Triphosphopyridinnucleotid u. a., Cytosin, 5-Methylcytosin, 5-Hydroxymethylcytosin, Cytimidin, Thymin, Uracil, Willardiin, 5-Aminouracil, 4,5-Dihydrouracil, 4-Aminouracil, Uridin, 4,5-Dihydrouridin, 2'-Desoxyuridin, 5-Methyluridin, Pseudouridin, Orotidin, Cytidin, 2'-Desoxycytidin, 5-Methylcytidin, Thymidin, a-Thymidin, Cytidin-2'-monophosphat, Cytidin-3'-monophosphat, Cytidin-5'-monophosphat, Uridin-5'-diphosphat, Uridin-2'-monophosphat, Uridin-3'-monophosphat, Uridin-5'-monophosphat, Uridin-5'-diphosphat, 5-Methylcytidin-3'-monophosphat, Orotidin-5'-monophosphat, Thymidin-5'-monophosphat, Thymidin-5'-triphosphat, 2'-Desoxycytidin-5'-monophosphat, 2'-Desoxycytidin-5'-diphosphat, Uridindiphosphat-glucose, Uridindiphosphat-galaktose, Uridindiphosphat-arabinose, Uridindiphosphat-xylose, Uridindiphosphat-glucuronsäure, Uridindiphosphat-N-acetylglaktosamin, Cytidindiphosphat-a-glycerin, Cytidindiphosphat-ribitol, cycl. AMP, cycl. GMP u. a.

Als Nucleinsäurekomponenten (c) werden bevorzugt Inosin, Adenin, Adenosin, Guanosin, cycl. AMP und/oder AMP eingesetzt, wobei deren Gesamtmenge in einer wäßrigen Endlösung des synthetischen Organextraktes vorzugsweise 0,01 bis 2,5 g/l beträgt.

Als weitere wesentliche Komponente der erfindungsgemäßen synthetischen Organextrakte ist mindestens ein Kohlenhydrat und/oder Kohlenhydratderivat enthalten, wobei die Komponente (d) mindestens einen Zuckeralkohol aus der Gruppe bestehend aus Sorbit, Mannit, Inosit und Dulcitol in einer Menge von mindestens 20 Gew.-%, bezogen auf die Gesamtmenge der Aminosäuren in monomerer (a) und peptidgebundener (b) Form, umfaßt.

Beispiele für andere geeignete Verbindungen der Gruppe (d) sind Dihydroxyaceton, Dihydroxyacetonphosphate, D-Glycerinaldehyd, D-Glycerinaldehyd-3-phosphat, D-Erythrose,  $\beta$ -D-Arabinose, D,L-Arabinose, 2-Desoxy-D-ribose (Desoxyarabinose), L-Fructose (6-Desoxy-L-galactose), L-Rhamnose (6-Desoxy-L-mannose), D-Ribose, D-Ribulose, D-Xylulose, L-Xylulose, D-Fructose, D-Galactose, D-Galactosamin (2-Amino-2-desoxy-D-galactose), N-Acetyl-D-galactosamin, D-Glucose, D-Glucosamin, N-Acetyl-D-glucosamin, N-Methyl-L-glucosamin, D-Mannose, D-Seduheptulose, L-Glycerin-1-phosphat, L-Glycerinsäure-2-phosphat, D-Glycerinsäure-3-phosphat, D-Glycerinsäure-1,3-diphosphat, D-Glycerinsäure-2,3-diphosphat, Phosphoenolbrenztraubensäure, D-Erythrose-4-phosphat, L-Erythrulose-1-phosphat, alpha-D-Ribose-1-phosphat, D-Ribose-5-phosphat, Desoxyribose-1-phosphat, D-Ribulose-5-phosphat, D-Xylulose-5-phosphat, D-Fructose-1-phosphat, D-Fructose-6-phosphat, D-Fructose-1,6-diphosphat, alpha-D-Galactose-1-phosphat, D-Galactosamin-1-phosphat, N-Methylgalactosamin, N-Methylglucosamin, alpha-D-Glucose-1-phosphat, D-Glucose-6-phosphat,  $\beta$ -D-Glucose-1,6-diphosphat, D-Glucosamin-6-phosphat, D-Glucosäure-6-phosphat, D-Mannose-6-phosphat, D-Seduheptulose-7-phosphat, D-Seduheptulose-1,7-diphosphat, Lactosephosphat, Cellobiose, Maltose, Saccharose, Lactose, Fucosidolactose, Gentiobiose, Trehalose, Disaccharid aus Glucuronsäure und N-Acetylglucosamin.

Von diesen Kohlenhydraten und Derivaten werden Glucose, Invertzucker, D-Mannose, D-Ribulose, L-Erythrulose-1-phosphat, D-Fructose-6-phosphat, D,L-Arabinose und die N-Methylhexosamine bevorzugt verwendet.

Die Kohlenhydrate können als Einzelverbindungen oder als Gemische von Kohlenhydraten, wie z. B. als Hydrolysate von Melassen, Stärken, Glykogen, Inulin, Agar-Agar und Alginaten eingesetzt werden.

Zu den Kohlenhydratderivaten gehören neben den Zuckeralkoholen auch die Oxidationsprodukte von Kohlenhydraten, wie D-Glycerinsäure, Isoascorbinsäure, L-Ascorbinsäure, Dehydroascorbinsäure, 2,3-Diketogluconsäure, D-Gluconsäure, alpha-D-Galacturonsäure,  $\beta$ -D-Glucuronsäure, D-Iduronsäure, Zuckersäure, die Dicarbonsäure der Mannose und Galactose, wobei L-Ascorbinsäure, D-Glycerinsäure und D-Iduronsäure besonders bevorzugt sind.

Die Bedeutung der genannten Zuckeralkohole wird auch dadurch herausgestellt, daß in bevorzugten synthetischen Organextraktzusammensetzungen die Kohlenhydratkomponente (d) Sorbit und/oder Mannit in einer Menge aufweist, die einem Vielfachen des in dem vergleichbaren natürlichen Organextrakt vorkommenden Gesamtkohlenhydratgehaltes entspricht. Dieses Vielfache kann bis zu einem Faktor von 100 reichen.

Im allgemeinen enthält eine wäßrige synthetische Organextrakt-Endlösung etwa 0,1 bis 70 g/l, vorzugsweise 0,1 bis 20 g/l Kohlenhydrate der Gruppe (d), jedoch können die Hexite in einer Menge bis zu 70 g/l vorhanden sein.

Aliphatische Carbonsäuren mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen bilden die Komponente (e) des erfindungsgemäßen synthetischen Organextraktes, deren Gesamtmenge mindestens 5 Gew.-% der Aminosäure-Gesamtmenge aus den Komponenten (a) und (b) ausmacht. Verbindungen aus dieser Gruppe sind in lebenden Zellen nachweisbar. Hierzu gehören Milchsäure, Apfelsäure, Bernsteinsäure, alpha-Ketoglutarinsäure, Citronensäure, iso-Citronensäure, cis-Aconitsäure, Fumarsäure, Oxalessäure, die Weinsäuren, Brenztraubensäure, Mevalonsäure, Acetessigsäure,  $\beta$ -Hydroxybuttersäure und Orotsäure. Bevorzugt werden Citronensäure, Bernsteinsäure, Milchsäure, alpha-Ketoglutarinsäure, cis-Aconitsäure und Brenztraubensäure. In der bevorzugten Zusammensetzung einer synthetischen Extraktlösung sind diese Verbindungen in einer Menge von 0,05 bis 20 g/l enthalten. Wenn mehrere dieser Carbonsäuren enthalten sind, wird es bevorzugt, daß das Gewichtsverhältnis der Carbonsäuren mit 4 und/oder 6 Kohlenstoffatomen zu den restlichen Carbonsäuren 1:1 bis 7:1 beträgt, d. h. daß die Säuren mit 4 und/oder 6 Kohlenstoffatomen mindestens ein Drittel der Komponente (e) stellen. Für Bernsteinsäure liegt der bevorzugte Bereich bei etwa 0,2 bis 15 g/l, ebenso wie für die Äpfelsäure.

Die Alkoholkomponente (f) des erfindungsgemäßen synthetischen Organextraktes umfaßt nichttoxische aliphatische und/oder aromatische Alkohole mit 2 bis 7 Kohlenstoffatomen, wie Ethanol, Butanol, Glycerin und Benzylalkohol. Benzylalkohol kann allein oder in Kombination mit weiteren Alkoholen aus Gruppe (f) verwendet werden. Die Alkoholmenge beträgt vorzugsweise etwa 0,1 bis 15 g/l synthetischer Extraktlösung.

Neben den vorstehend erläuterten wesentlichen Komponenten des erfindungsgemäßen Präparats können gegebenenfalls noch Vitamine, Mineralsalze und/oder Spurenelemente sowie Puffersubstanzen und Konservierungsmittel enthalten sein, wobei deren Mengen im üblichen Rahmen liegen. Eine Pufferwirkung wird zuweilen auch von bestimmten Säuren wie Citronensäure und Milchsäure ausgeübt, um den pH-Wert der Lösung auf etwa 5,5 bis 7,0 einzustellen bzw. diesen Wert aufrechtzuerhalten.

Die Peptidkomponente (b) kann zwar ausschließlich von synthetischen Peptiden gebildet werden. Es wird jedoch bevorzugt, daß die Peptide zumindest teilweise durch schonende Hydrolyse oder Partialhydrolyse von höheren Peptiden oder Proteinen in Gegenwart von Mineralsäure, Natronlauge und/oder Enzymen, und gegebenenfalls über Ultrafiltration selektiert, gebildet werden. In diesen Fällen ist jedoch stets darauf zu achten, daß keine immunogenen bzw. pathogenen Proteine und Proteinabbauprodukte sowie insbesondere keine unkonventionellen Viren und Prionen bzw. deren Proteinbestandteile in den synthetischen Organextraktansatz gelangen.

Nach einer bevorzugten Ausführungsform setzt sich die Peptidkomponente (b) mindestens teilweise aus Peptonen zusammen, welche aus der Gruppe bestehend aus Gelatinepepton, Sojabohnenpepton, Maispepton, Haferpepton, Fischpepton, Fischkollagen, Quallenkollagen, Säuretierkollagen, Kollagenpepton, Caseinpepton, Hefepeptiden und/oder von einer partiell dehydratisierten Hefe mit einem Wassergehalt von 60 bis 80% ausgewählt sind. Weiterhin ist es bevorzugt, daß der synthetische Organextrakt zusätzlich Albumin enthält.

Es ist auch möglich, daß mindestens ein Teil der Komponenten von einem entsprechenden dialysierten entproteinierten Organextrakt-Hydrolysat gebildet wird, insbesondere von solchen Organextrakthydrolysaten, deren synthetisches Gegenstück angestrebt wird. In diesem Fall dient die erfindungsgemäße Präparation praktisch als Supplement eines Naturstoffextraktes.

Für die Herstellung der hier beschriebenen synthetischen Organextraktpräparate hat sich ein Verfahren besonders bewährt, bei dem man zunächst ein Gemisch aus zwei Teillösungen herstellt, wobei die Teillösung 1 eine wäßrige, entionisierte Lösung ist, welche die Hexite, Kohlenhydrate, leicht wasserlöslichen Aminosäuren bzw. deren Salze und gegebenenfalls Harnstoff und Konservierungsmittel enthält, und die Teillösung 2 eine alkalisch-wäßrige Lösung der in Alkali leicht löslichen Aminosäuren ist. Das alkalisch reagierende Gemisch wird dann mit den Carbonsäuren und Alkoholen versetzt, bevor die Mineralsalze, Vitamine und Spurenelemente hinzugegeben werden. Danach erfolgt die Zumischung der wasserlöslichen bzw. wasserlöslich gemachten Nucleinsäureverbindungen. Dieser Ansatz wird schließlich mit einem oder mehreren desodorierten Ansätzen von der Peptidkomponente (b) enthaltenden, gegebenenfalls zuvor entsalzten, wäßrigen Lösungen vereinigt und mit Wasser auf das Endvolumen eingestellt. Der pH-Wert der Endlösung wird vorzugsweise auf 6,0 bis 7,5 eingestellt. Abschließend wird die Lösung sterilfiltriert. Als besonders vorteilhaft bei der Herstellung der erfindungsgemäßen Extrakte hat sich die Verwendung von vollständig entsalztem bzw. bidestilliertem Wasser erwiesen.

Es ist zweckmäßig, die Mischungs- und Lösungsschritte unter stetigem Rühren und unter Stickstoff-Schutzatmosphäre durchzuführen. Die Peptidlösungen werden vorzugsweise mit Aktivkohle desodoriert. Das Arbeiten unter pyrogenfreien Bedingungen schafft die besten Voraussetzungen für den Erhalt von stabilen synthetischen Organextraktlösungen und ist deshalb besonders bevorzugt.

Der Trockenstoffgehalt der wäßrigen Endlösungen beträgt vorzugsweise 0,25 bis 12 Gew.-%.

Beispielsweise kann die Teillösung 1 hergestellt werden, indem die folgenden Bestandteile unter sterilen Bedingungen und unter Rühren in bidestilliertem Wasser entsprechend 3/10 bis 4/10 des Endvolumens bei einem pH-Wert zwischen 6,0 und 7,5 gelöst werden. Hierzu werden zunächst die Aminosäuren L-Glutaminsäure, L-Asparaginsäure, L-Valin, L-Tyrosin, L-Phenylalanin, L-Isoleucin und L-Leucin in 2 N NaOH vorgelöst. Anschließend erfolgt die Zugabe der Carbonsäuren Citronensäure, Bernsteinsäure und Äpfelsäure, wobei der pH-Wert gegebenenfalls nachreguliert werden muß. Zu diesem Ansatz werden dann die weiteren Aminosäuren bzw. deren Derivate, nämlich L-Alanin, L-Histidin, Glycin, L-Ornithin, L-Asparagin, L-Threonin, L-Hydroxyprolin, Kreatinin, L-Methionin, L-Tryptophan, L-Prolin, L-Serin, L-Arginin-HCl, L-Lysin-HCl, sowie Hippursäure und Harnstoff gegeben. Die Nucleinsäurekomponenten werden teilweise vorgelöst, so z. B. Xanthin in 3N NaOH und Guanin in 3N HCl, und dann vor deren Zugabe weitgehend neutralisiert. Die jeweiligen Mengen der für eine gewünschte Teillösung 1 benötigten Komponenten variieren in Abhängigkeit mit der angestrebten Zusammensetzung des gewünschten synthetischen Organextraktes und beziehen sich jeweils auf 1 Liter Endvo-

# DE 41 39 639 A1

lumen und sind demzufolge als Endkonzentrationsangaben zu verstehen.

## (a) Aminosäuren und Derivate

5	L-Glutaminsäure	0,1 — 2,5 g/l
	L-Histidin, L-Ornithin, L-Asparagin, L-Asparaginsäure, L-Valin, L-Tyrosin, L-Threonin, L-Hydroxyprolin, L-Phenylalanin, Kreatinin	je 0,01 — 0,5 g/l
	L-Methionin, L-Isoleucin, L-Tryptophan, L-Leucin, $\beta$ -Alanin, Cystein	je 0,01 — 0,07 g/l
10	L-Alanin, Glycin, L-Prolin, L-Serin, L-Arginin · HCl, L-Lysin · HCl	je 0,15 — 20,0 g/l
	Hippursäure	0,01 — 0,05 g/l
	Harnstoff	0,25 — 10,0 g/l

## (b) Peptide und Derivate

15	Oligopeptide mit 3 bis 6 Aminosäuren, ggfs. als Metallkomplexe stabilisiert	0,01 — 5,0 mg/l
----	---	-----------------

Weitere Elemente der Komponentengruppen (a) und (b) können durch Peptonzusätze bzw. den nachfolgend näher erläuterten Zusätzen in die Endlösung gelangen.

## (c) Nucleinsäure-Komponenten und Derivate

25	Adenin, Adenosin, Cytidin, Cytosin, Guanin, Guanosin, Hypoxanthin, Inosin, Thymin, Uracil, Uridin, Xanthin, Harnsäure, Orotsäure, cycl. AMP, Adenosinmonophosphat	je 0,0005 — 0,2 g/l
----	--	---------------------

## (d) Kohlenhydrate und Derivate

30	Glucose	0,01 — 1,0 g/l
	Sorbit, Mannit und/oder Dulcitol	1,0 — 10,0 g/l

## (e) Aliphatische Carbonsäuren

35	Bernsteinsäure, Äpfelsäure, Citronensäure	je 0,25 — 10,0 g/l
----	---	--------------------

## (f) Alkohole mit 2 bis 7 Kohlenstoffatomen

40	Ethanol (96%ig, medizinisch rein)	1,0 — 25,0 g/l
	Glycerin	0,25 — 5,0 g/l
	Benzylalkohol	0,05 — 3,0 g/l

## (g) Vitamine

50	Thiamindichlorid, Nicotinsäureamid, Nicotinsäure, p-Aminobenzoessäure, Calciumpanthotenat, myo-Inosit, Pyridoxol · HCl, Biotin, Tocopherolsuccinat	je 0,1 — 50 mg/l
----	---	------------------

## (h) Mineralsalze und Spurenelemente

55	Magnesiumsulfat, Magnesiumacetat, Magnesiumaspartat	je 0,002 — 0,1 g/l
	Zinkacetat, Kobaltgluconat, Mangangluconat	je 0,001 — 0,1 mg/l

## (i) Sonstige Bestandteile

60	N-Methylglucamin	0,1 — 3,0 g/l
	Natriumlactat	0,1 — 5,0 g/l

## (k) Konservierungsstoffe

p-Hydroxybenzoesäuremethylester-Natriumsalz	1,0—2,0 g/l	
und/oder		
Kaliumsorbat	0,1—5,0 g/l	5

Die Komponente (k) umfaßt erfindungsgemäß sämtliche der in Anlage 6 der Kosmetik-Verordnung vom 19. Juni 1985 (BGBl. I S. 1082), zuletzt geändert am 21.3.1990 (BGBl. I S. 589), angegebenen Konservierungsstoffe.

Die für die Herstellung des gewünschten synthetischen Organextrakts erforderliche Teillösung II kann beispielsweise wie folgt zubereitet werden: 10

Ein oder mehrere Peptone, die aus Casein, Soja, Gelatine, Hefe, partiell dehydratisierter Hefe, Lactalbumin oder ähnlichen tierischen bzw. pflanzlichen Ausgangsstoffen gewonnen worden sind, werden zur Desodorierung und Entfärbung in der 10- bis 40-fachen Menge wie destilliertem Wasser unter starkem Rühren gelöst bzw. suspendiert und über Nacht unter Rühren mit Aktivkohle behandelt, und zwar mit einer Menge, die 5 bis 15 Gew.%, bezogen auf die Gesamtmenge der eingesetzten Peptone, entspricht. Nach Abnutschen und Sterilfiltration des Ansatzes durch ein 0,2 µm Filter (Millipore) wird die Peptonlösung der Teillösung I zugegeben. Dabei wird die Menge so bemessen, daß die Endlösung 2,0 bis 12,0 g/l Pepton enthält. Alternativ kann die Teillösung II hergestellt werden, indem man ein oder mehrere tierische Peptone mit der 9- bis 12-fachen Menge 0,5 bis 1,2 N HCl im Rührautoklaven 1 bis 4 Stunden lang auf 100°C erhitzt, anschließend auf 15°C abkühlt und mit soviel NaOH versetzt, daß das erhaltene Partialhydrolysat 1 N an NaOH ist. Nach einer Zeitdauer von 90 Minuten wird der pH-Wert der Lösung mit HCl auf 6,8 eingestellt und der Ansatz entsalzt. Anschließend kann die erhaltene Lösung wie oben mit Aktivkohle behandelt und gegebenenfalls nach Sterilfiltration der Teillösung I hinzugefügt werden. 15 20

Alternativ können auch geeignete Peptone tierischen Ursprungs, wie insbesondere Kollagenpepton des Typs I mit bakterieller Kollagenase in Tris-HCl-Puffer bei einer Temperatur von 36,8°C und einem pH-Wert von 7,4 in Gegenwart von  $\text{Ca}^{++}$ -Ionen behandelt werden. Nach einer Inkubationszeit von 5 Stunden wird der Ansatz dialysiert und nach Einstellen des pH-Wertes auf 6,8 und Sterilfiltration der Teillösung I hinzugegeben. 25

Die Erfindung wird nachfolgend anhand von Beispielen näher erläutert. 30

## Beispiel 1

## Herstellung eines synthetischen Placentaextraktes

Die nachfolgend aufgeführten Bestandteile wurden unter sterilen Bedingungen und unter Rühren in einem Volumen bidestillierten Wassers gelöst, welches 3/10 bis 4/10 des einzustellenden Endvolumens entspricht. Dabei wurde der pH-Wert der Lösung zwischen 6,0 und 7,5 gehalten. 35

Zunächst wurden die Aminosäuren L-Glutaminsäure, L-Asparaginsäure, L-Valin, L-Tyrosin, L-Phenylalanin, L-Isoleucin und L-Leucin in 2 N NaOH vorgelöst. Anschließend erfolgte die Zugabe der Carbonsäuren, Zitronensäure, Bernsteinsäure und Äpfelsäure. Nachdem der pH-Wert der Lösung auf 6,4 eingestellt worden war, wurden dem Ansatz die folgenden Aminosäurekomponenten L-Alanin, L-Histidin, Glycin, L-Ornithin, L-Asparagin, DL-Threonin, L-Hydroxyprolin, Kreatinin, L-Methionin, L-Tryptophan, L-Prolin, L-Serin, L-Arginin · HCl, L-Lysin · HCl, Hippursäure und Harnstoff zugegeben. Die Nucleinsäurekomponenten Xanthin und Guanin wurden in 3 N NaOH bzw. 3 N HCl vorgelöst und dann weitgehend neutralisiert. 40

Die nachfolgend aufgeführten Mengen der dem Ansatz zugegebenen Komponenten beziehen sich jeweils auf 1 l Endvolumen. 45

50

55

60

65

# DE 41 39 639 A1

## (a) Aminosäuren und Derivate

	L-Glutaminsäure	0,3 g
	L-Histidin	0,06 g
5	L-Ornithin	0,08 g
	L-Asparagin	0,05 g
	L-Asparaginsäure	0,15 g
	L-Valin	0,05 g
10	L-Tyrosin	0,03 g
	DL-Threonin	0,04 g
	L-Hydroxyprolin	0,2 g
	L-Phenylalanin	0,04 g
	Kreatinin	0,01 g
15	L-Methionin	0,02 g
	L-Isoleucin	0,001 g
	L-Tryptophan	0,02 g
	L-Leucin	0,05 g
20	β-Alanin	0,035 g
	Cystein	0,002 g
	L-Alanin	0,24 g
	Glycin	0,4 g
	L-Prolin	0,24 g
25	L-Serin	0,26 g
	L-Arginin	0,3 g
	L-Lysin	0,3 g
	Hippursäure	0,001 g
30	Harnstoff	0,8 g

## (b) Peptide und Derivate

35	Oligopeptide mit 3 bis 10 Aminosäuren u. pflanzl. Peptone bzw. Peptonhydrolysate	4,0 g
----	--	-------

## (c) Nucleinsäurekomponenten und Derivate

40	Adenin	0,02 g
	Adenosin	0,02 g
	Cytidin	0,04 g
	Guanin	0,01 g
45	Cytosin	0,03 g
	Guanosin	0,02 g
	Hypoxanthin	0,02 g
	Inosin	0,1 g
50	Thymin	0,04 g
	Uracil	0,02 g
	Uridin	0,03 g
	Xanthin	0,01 g
	Harnsäure	0,001 g
55	Orotsäure	0,001 g
	cyclisches AMP	0,04 g
	Adenosinmonophosphat	0,01 g

## (d) Kohlenhydrate und Derivate

60	Glucose	0,15 g
	Sorbit	2,0 g
65	Mannit	0,1 g

## (e) Aliphatische Carbonsäuren

Bernsteinsäure	1,5 g	
Äpfelsäure	0,01 g	
Citronensäure	0,1 g	5

## (f) Alkohole

Ethanol	2,0 ml	10
Glycerin	0,4 ml	
Benzylalkohol	0,4 ml	

## (g) Vitamine

Thiamindichlorid	0,002 g	
Nikotinsäureamid	0,01 g	
Calciumpantothenat	0,002 g	20
myo-Inosit	0,05 g	
Pyridoxol · HCl	0,6 mg	
Biotin	0,1 mg	
Tocopherolsuccinat	0,002 g	25

## (h) Mineralsalze und Spurenelemente

Magnesiumsulfat	0,05 g	
Magnesiumaspartat	0,05 g	30
Zinkacetat	0,1 mg	
Kobaltgluconat	0,005 mg	
Mangangluconat	0,01 mg	
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> — H <sub>2</sub> O	0,05 g	35

## (i) Sonstige Zusätze

N-Methylglucamin	0,4 g	40
Natriumlactat	1,0 g	

## (k) Konservierungsstoffe

p-Hydroxybenzoesäuremethylester-Natriumsalz	0,7 g	45
---	-------	----

Der pH-Wert der nach Zugabe der aufgeführten Komponenten erhaltenen Teillösung I wurde auf 6,4 eingestellt. Anschließend erfolgte unter Rühren die Zugabe der Teillösung II, welche wie nachfolgend angegeben hergestellt wurde. Eine aus Soja, Mais und partiell dehydratisierter Hefe im Gewichtsverhältnis von 1:1:10 gewonnene Peptonmenge von insgesamt 4,0 g wurde zur Desodorierung und Entfärbung in einer 40-fachen Menge bidestillierten Wassers unter starken Rühren gelöst und über Nacht unter weiterem Rühren mit 0,6 g frischer Aktivkohle behandelt. Die so erhaltene Peptonlösung wurde nach Abnutschen und Sterilfiltration durch ein 0,2 µm Filter (Millipore) der oben angegebenen Teillösung I zugegeben.

Anschließend wurden dem Ansatz die synthetischen Peptidfragmente Gly-His-Lys, Gly-His-Pro und Glutathion in einer Gesamtkonzentration von 0,1 mg/l zugegeben.

Abschließend wurde das Endvolumen mit bidestilliertem Wasser auf 1 l gebracht und der pH-Wert auf 6,4 eingestellt. Die Abfüllung des erhaltenen synthetischen Placentaextraktes erfolgte durch ein 0,2 µm Millipore-Filter.

Die Analysendaten des erhaltenen synthetischen Placentaextraktes waren:

pH-Wert:	6,4
Trockenstoffgehalt:	1,4 Gew.-%
N-Gehalt nach Kjeldahl:	0,1%
Aminosäuren:	positiv (Ninhydrin)
5 Stoffwechselaktivität:	
– Atmungssteigerung von Leberhomogenat	> 1,8
– Gärungssteigerung von Hefe	1,8
Chloridgehalt:	< 0,2%
10 Sulfat:	0,05%
Hormone:	negativ
Schwermetalle:	< 20 ppm
Sterilität:	absolut keimfrei
Toxikologie DL <sub>50</sub> Maus:	> 25 g/kg
15 Dermatologische Prüfung:	ohne Reizwirkung
Haltbarkeit:	> 3 Jahre

Die kosmetische Wirksamkeit des hergestellten synthetischen Placentaextraktes wurde mit Hilfe des Padberg-Testes geprüft. Dabei wurde eine W/O-Creme mit 1% synthetischem Extrakt hergestellt und diese mit einer Creme verglichen, die 1% natürlichen Placentaextrakt enthielt. Beide Cremes wurden mit einer Placebo-Creme ohne jeglichen Zusatz verglichen.

Der Padberg-Test wurde wie folgt durchgeführt:

- 25 – Markieren der Teststelle auf der Haut,
- Vorbehandlung der Hautstelle mit einer 1%-igen Lösung eines nichtionischen Tensids zur Beeinträchtigung der Haut ("subjektiv raue Haut"),
- Waschen der Teststelle mit 37°C warmem Wasser,
- Abwischen der Teststelle,
- 30 – Akklimatisieren des Subjektes bei 20°C und einer relativen Feuchte von 60% für eine Zeitdauer von 45 Minuten,
- Auftragen von 20 ml einer Flecklösung, die 20% 0,5%-iges Methylenblau und 80% eines 1%-igen nichtionischen Tensids enthält,
- 30 Sekunden langes Einwirken der Flecklösung auf die Teststelle,
- 35 – Trocknen des Farbstoffs, 1 Minute lang,
- Entfernen von überschüssigem Farbstoff mit einer 0,2%-igen Lösung des verwendeten nichtionischen Tensids,
- 2-maliges, jeweils 60 Sekunden langes Eluieren mit 2 ml-Portionen einer Natriumlauratlösung (2,3% Natriumlaurat, 48,7% reines Wasser, 49% Isopropylalkohol),
- 40 – Bestimmung der Absorption des Eluats bei 660 nm mit einem Spektrometer.

Die Testbehandlung wurde durchgeführt, indem über einen Zeitraum von 20 Tagen zweimal täglich eine Probe aufgetragen wurde. Dabei wurde sichergestellt, daß die Testpersonen sowohl 3 Tage vor dem Test als auch während der Testperiode kein anderes Kosmetikum verwendet hatten. Am 21. Tag nach Beginn der Behandlung wurden die oben aufgeführten Verfahrensstufen einschließlich der Elution 4 Stunden vor der abschließenden Bewertung durchgeführt.

In der folgenden Tabelle I ist das jeweilige Verhältnis der Absorption von Methylenblau vor und nach dem Auftragen bei jeder Person für die W/O-Cremes in % aufgeführt, wobei die erfindungsgemäß hergestellte W/O-Creme mit 1% synthetischem Placentaextrakt mit einer W/O-Creme mit 1% natürlichem Placentaextrakt und mit einer W/O-Creme als Placebo verglichen wurde. Die absorbierte Menge an Methylenblau verläuft proportional zur Rauigkeit der Haut und die in der Tabelle aufgeführten Prozentgehalte wurden gemäß der folgenden Gleichung ermittelt:

$$55 \quad \text{Hautrauigkeit (\%)} = \frac{\text{Absorption nach Auftragung}}{\text{Absorption von unbehandelter Haut}} \times 100,$$

wobei davon ausgegangen wird, daß eine mit einer Creme behandelten Haut nur eine kleine Menge Methylenblau absorbiert. Der Mittelwert für 12 Versuchspersonen lag für den natürlichen Placentaextrakt etwas höher als für die erfindungsgemäße Formulierung eines synthetischen Placentaextraktes. Der Placebowert war dementsprechend wesentlich höher.

Tabelle I

Alter der Versuchsperson	W/O-Creme mit 1% Zusatz des synthetischen Placentaextrakts	W/O-Creme mit 1% Zusatz von natürlichem Placentaextrakt	Placebo	
45	53,0	60,0	95,0	5
52	59,6	68,1	92,4	
48	60,0	50,2	96,0	
59	55,8	60,0	90,4	10
46	58,7	52,3	95,0	
41	64,0	71,5	76,7	
50	62,0	63,9	90,7	
55	70,4	65,5	79,9	
62	40,7	58,0	76,6	15
48	48,0	55,0	80,7	
55	60,0	58,0	89,7	
59	44,0	65,0	78,9	
	56,4	60,6	86,6	20

## Beispiel 2

## Herstellung eines synthetischen Serum-/Placentaextraktes

Die Herstellung eines synthetischen kombinierten Serum- und Placentaextraktes erfolgte zunächst bis zur Zugabe der Komponente (k) gemäß Beispiel 1 mit der Abweichung, daß die jeweiligen Mengen der Aminosäuren Serin, Prolin, Arginin und Lysin sowie die Menge der unter (f) angegebenen Alkohole um 50% erhöht wurden. Nach Zugabe der Komponente (i) wurde der pH-Wert auf 6,8 eingestellt. Anschließend wurden dem Ansatz die folgenden Peptidkomponenten hinzugegeben:

- a) Synthetische Peptidfragmente gemäß Beispiel 1,
- b) 0,1 mg des Peptidfragments Arg-Gly-Val-Phe-Arg-Arg,
- c) Eine aus partiell dehydratisierten Hefen und Soja gewonnene Peptonmischung im Gewichtsverhältnis von 5:1 wurde mit der 10fachen Menge 1 N HCl 3 Stunden lang auf 100°C im Rührautoklaven erhitzt, sodann auf 15°C abgekühlt und mit einer solchen Menge NaOH versetzt, daß das erhaltene Partialhydrolysat 1 N an NaOH war. Nach 90 Minuten wurde der pH-Wert mit HCl auf 6,8 eingestellt und der Ansatz entsalzt. Die anschließende Behandlung mit Aktivkohle sowie die anschließende Sterilfiltration erfolgte gemäß Beispiel 1. Von der aus dem Partialhydrolysat von Peptonen erhaltenen 5%-igen Peptid-Aminosäure-Lösung wurden 20 g zugegeben.

Das erhaltene Lösungsgemisch wurde auf einen pH-Wert von 6,8 eingestellt und mit bidestilliertem Wasser auf das Endvolumen von 1 l verdünnt und erneut durch ein 0,2 µm Millipore-Filter sterilfiltriert.

Die Eigenschaften des erfindungsgemäß hergestellten synthetischen Extraktes waren wie folgt:

Konsistenz:	klare wäßrige Flüssigkeit	45
Geruch:	angenehm, frei von organischen Lösungsmitteln	
Farbe:	schwach gelblich	
Löslichkeit:	unbegrenzt mit Wasser mischbar, mit Ethanol mischbar im Verhältnis 1 : 1	
pH-Wert:	6,8	50
Trockenstoffgehalt:	2,0 Gew.-%	
N-Gehalt nach Kjeldahl	0,12%	
Aminosäuren:	positiv (Ninhydrin)	
Peptide:	positiv (Biuret)	55
Stoffwechselaktivität		
— Atmungssteigerung von Leberhomogenat	> 2,5	
— Gärungssteigerung von Hefe	> 2,0	
Schwermetalle:	< 10 ppm	
Sterilität:	keimfrei	60
Konservierungsmittel:	4-Hydroxybenzoesäuremethylester	
Toxikologie: DL <sub>50</sub> Maus	> 25 g/kg	
Hormone:	negativ	

Zur Demonstration der Wirksamkeit des erfindungsgemäß hergestellten kombinierten synthetischen Placenta-/Serumextraktes wurden Wundheilungsversuche gemäß DE-PS 37 11 054 sowie anschließend Hautspannungsmessungen durchgeführt. Zum Vergleich wurde ein Präparat auf der Basis einer Kombination der beiden

natürlichen Organextrakte herangezogen. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II

5	Zeit nach Setzen der Wunde	Versuchsgruppe	Kontrollgruppe	Differenz
	a) Kombination der natürlichen Extrakte aus Serum und Placenta			
10	5 Tage	216 ± 15	104 ± 29	113
	12 Tage	470 ± 26	402 ± 24	68
	16 Tage	809 ± 49	719 ± 40	90
	21 Tage	1627 ± 56	1412 ± 60	215
15	b) Erfindungsgemäßes Präparat nach Beispiel II			
	5 Tage	250 ± 17	105 ± 30	145
	12 Tage	530 ± 32	430 ± 22	100
	16 Tage	900 ± 50	740 ± 33	160
20	21 Tage	1810 ± 50	1465 ± 55	345

Die in der Tabelle aufgeführten Ergebnisse dokumentieren die überlegene Wirksamkeit des erfindungsgemäßen Präparats. Dieses führte zu jeweils höheren Werten der Hautspannung, als sie durch das Kontrollpräparat erhalten werden konnten.

## Beispiel 3

## Herstellung eines synthetischen Mizextraktes

Jeweils 400 l der in den Beispielen 1 und 2 beschriebenen Teillösungen I bzw. II wurden mit einer Peptidlösung kombiniert, welche 1 g synthetische Peptide enthielt, die in Partialhydrolysaten von Milzproteinen und Milzkollagenen nachgewiesen worden waren. Die kombinierte Lösung wurde anschließend mit bidestilliertem Wasser auf das Endvolumen von 1000 l gebracht und nach Einstellung des pH-Wertes auf 6,5 durch ein Membranfilter mit einer Maschenweite von 0,2 µm steriltfiltriert. Die Analysedaten sind wie folgt:

pH-Wert:	6,5
Trockenstoffgehalt:	2,5 Gew.-%
Atmungssteigerungsfaktor: (Warburg)	> 2,5
Sterilität:	keimfrei
Toxikologie DL <sub>50</sub> Maus:	> 25 g/kg
Proteine:	negativ

Die hohe Stoffwechselaktivität der hergestellten synthetischen Extraktlösung konnte am Proliferationsverhalten von Zellkulturen nachgewiesen werden. Dabei wurden sowohl die Vermehrung als auch die Subkultivierung von Fibroblasten in offenen und geschlossenen Kulturgefäßen unter dem Einfluß der gemäß Beispiel 3 hergestellten Lösung beobachtet.

Zur Durchführung des Versuches wurden unter sterilen Bedingungen aus 9 bis 16 Tage lang bebrüteten Hühnerembryos Bindegewebe und Knochengewebe sowie Epithelien explantiert und mit der Plasma-Extrakt-Gel-Methode nach Carrel bei einem pH-Wert von 7,2 und einer Temperatur von 37°C im Brutschrank kultiviert. Es wurde die Plasma-Clot-Technik mit Hühnerplasma, Hühner-Embryonalextrakt und Hühnerserum angewendet. Die Testlösungen wurden mit Ringer-Lactatlösung verdünnt. Jeweils 0,02 ml der jeweiligen Konzentrationsstufen wurden dem Kulturmedium zugegeben.

In den folgenden Versuchsreihen wurden Kontrollproben ohne Präparatzusatz zum Vergleich herangezogen.

1) 1 ml der gemäß Beispiel 3 hergestellten Lösung wurde mit 100 ml Ringer-Lactatlösung verdünnt und es wurden jeder Kultur 0,02 ml zugesetzt. Nach einem Zeitraum von 4 Tagen ergaben sich folgende Reaktionen:

- a) Haut: sehr starke, stimulierte Zellproliferation, bedeutend stärker als bei den Kontrollen.
- b) Herzmuskel: sehr gute, stimulierte Zellproliferation, stärker als bei den Kontrollen.

2) Bei einer weiteren Verdünnung (1 ml Originallösung/300 ml Ringer-Lactatlösung) zeigten die Explantate des 12 Tage alten Hühnerembryos nach 4 Tagen folgende Resultate:

- a) Haut: sehr gute Proliferation, schwach bei den Kontrollen.
- b) Koronargefäße: sehr starke, stimulierte Fibroblasten-Proliferation, bedeutend stärker als bei den Kontrollen.
- c) Herzmuskel: sehr feinfädige, strukturierte Fibroblasten-Proliferation, Kontrolle schlechter.
- d) Leber: gute Zellproliferation.

- e) Os frontale: sehr starke Osteoblasten-Proliferation.  
f) Magen: gute Epithel-Proliferation bei starker Lyse (vgl. Fig. 2).

## Beispiel 4

## Herstellung eines synthetischen Thymusextraktes (100 l-Ansatz)

200 g p-Hydroxybenzolsäuremethylester in 0,7 l Ethanol (94%-ig) und 0,1 l Benzylalkohol wurden mit bidestilliertem Wasser auf 20 l verdünnt. Hierzu wurden die folgenden Fraktionen in der angegebenen Reihenfolge unter leichtem Rühren zugegeben. Die angegebenen Mengen beziehen sich jeweils auf 1 l der späteren Gesamtlösung.

1) Glycin	0,8 g	
L-Alanin, L-Serin, L-Lysin · HCl, L-Prolin, L-Arginin · HCl	je 2,0 g	
D,L-Threonin, L-Histidin, L-Asparagin	je 0,2 g	15
L-Methionin	0,02 g	
Harnstoff	2 g	
Sorbit	50 g	
2) L-Asparaginsäure, L-Leucin, L-Tyrosin, L-Phenylalanin, L-Lysin (vorgelöst in 2 N NaOH)	je 0,1 g	20
L-Glutaminsäure, L-Valin	je 0,6 g	
3) Citronensäure	2 g	
Äpfelsäure	0,1 g	
Bernsteinsäure	2,5 g	
4) n-Methylglucamin	1 g	25
Einstellen des pH-Wertes auf 6,8		
5) Natriumdihydrogenphosphat	0,2 g	
Natriumlactatlösung (50%ig)	5 g	
Glycerin	2 g	30
6) Desodorierte Pepton-Lösung, hergestellt aus 1000 g Pepton, welches in Wasser gelöst, mit 700 g Aktivkohle versetzt, 24 Stunden gerührt und filtriert worden war. Insgesamt:	25 l	
7) Glucose	0,4 g	
8) Inosin	0,3 g	
9) Adenin, Adenosin, Guanosin, Thymin, Cytidin, Cytosin, Uridin, Uracil, cycl. AMP, cycl. GMP, ADP, Thiamin-dichlorid	je 0,01 g	35
10) Zinkacetat, Magnesiumacetat, Kobaltgluconat, Mangangluconat	je 0,003 mg	
11) Chondriosomenextrakt (aus Hefe)	2 ml	

Zu dieser Grundlösung, die ein Volumen von etwa 45 l aufwies, wurden die folgenden Peptidlösungen hinzugegeben:

- Oligopeptidlösung, enthaltend 0,05 Gew.-% der Tri- und Hexapeptide  
Gly-Pro-His, Gly-His-Lys, Gly-His-His-Gly-His-Lys
- Thymusfaktor-Fragmente: 0,1 mg  
Ala-Lys-Ser-Glu-Gly-Gly-Ser-Asn,  
Gly-Gly-Glu-Arg-Lys-Asp-Val-Tyr-Val-Glu-Leu-Tyr-Leu,  
Gly-Gly-Glu-Arg-Lys-Asp-Val-Tyr-Val-Glu-Leu-Tyr-Leu-Val-Tyr-Leu,  
Gly-Gly-Glu-Arg-Lys-Asp-Val-Tyr-Val-Glu-Leu

Anschließend wurde der pH-Wert der erhaltenen Lösung auf 6,8 eingestellt und der Ansatz mit bidestilliertem Wasser auf das Lösung erneut auf pH 6,8 eingestellt und der Ansatz durch ein 0,2 µm Millipore-Filter steriltfiltriert.

Der so erhaltene synthetische Thymusextrakt wies die folgenden Eigenschaften auf:

Aussehen:	klare Lösung
Farbe:	farblos bis schwach gelb
Geruch:	desodoriert
pH-Wert:	6,8
Trockenfeststoffgehalt:	5,3 Gew.-%
Stickstoffgehalt:	0,7%
Aminosäuren:	positiv
Peptide:	positiv
Stoffwechselaktivität	
– Atmungssteigerungsfaktor:	> 2,5
Schwermetalle:	< 10 ppm
Sterilität:	keimfrei
Haltbarkeit:	> 3 Jahre

Die toxikologischen und pharmakologischen Daten waren wie folgt:

- Akute Toxizität an Mäusen (80 Tiere)  
DL<sub>50</sub> i.v. > 25 ml/kg  
i.p. > 50 ml/kg  
p.o. > 25 g/kg
- Akute Toxizität an Ratten (80 Tiere)  
DL<sub>50</sub> i.v. > 10 ml/kg  
i.p. > 20 ml/kg
- Studie der chronischen Toxizität an Albinoratten (40 Tiere) keine Toxizität,
- Toxizität bei Hunden (12 Beagle-Hunde, 26 Wochen alt) keine Toxizität,
- Untersuchungen der Reproduktion, Fertilität und Teratogenität bei Ratten (80 Tiere) keine Beeinträchtigung.
- Toxizitätsstudien, peri- und postnatal an Ratten (30 Tiere, 21 Tage Schwangerschaft, Alter der Tiere ca. 100 Tage) keine negativen Befunde.
- Untersuchungen teratogener Wirkungen bei Kaninchen (20 Tiere, Körpergewicht ca. 2,4 kg) keine negativen Befunde

#### Beispiel 5

##### Herstellung eines synthetischen Serumextraktes (50 l-Ansatz)

15 g p-Hydroxybenzoesäurealkylester (Natriumsalz) wurden in 20 l bidestillierten Wassers gelöst und es wurden anschließend die folgenden Fraktionen unter Rühren und Stickstoffbegasung hinzugegeben. Die angegebenen Mengen beziehen sich jeweils auf 1 l der späteren Gesamtlösung.

1) Adenin, Adenosin, Uracil, Uridin, cycl. AMP, cycl. GMP, cycl. TMP, ADP, GDP, Cytosin, Uridin, Cytidin, Thymin, Guanin, Guanosin, ATP-Mg und Hypoxanthin	je 0,001 g	
Inosin	0,3 g/l	
2) Glycin	1 g	
L-Alanin	0,2 g	5
$\beta$ -Alanin	0,1 g	
L-Lysin, L-Arginin, L-Prolin, L-Serin	je 0,3 g	
D,L-Threonin	0,01 g	
L-Leucin, L-Methionin	je 0,04 g	10
3) Glucose	0,3 g	
Fructose	0,02 g	
4) Sorbit	9,0 g	
Mannit	0,5 g	
Harnstoff	1,5 g	15
5) Harnsäure, vorgelöst in heißer 2 N NaOH	0,08 g	
6) L-Glutaminsäure	0,06 g	
L-Asparaginsäure	0,05 g	
L-Tyrosin	0,02 g	20
L-Phenylalanin	0,03 g	
L-Valin	0,04 g	
Die vorgenannten Aminosäuren wurden in 2 N NaOH vorgelöst.		
Hippursäure	0,03 g	
p-Aminobenzoesäure	0,002 g	25
Kreatinin	0,01 g	
7) Citronensäure	2,4 g	
Bernsteinsäure	1 g	
Milchsäure	5 g	30
8) n-Methylglucamin	5 g	
9) Ethanol (95%ig)	5 ml	
10) Natriumchlorid	1,0 g	
Natriumascorbat	0,03 g	
11) Chondriosomenextrakt (aus Hefe) dialysiert, ultrafiltriert und sterilfiltriert, Feststoffgehalt 0,25%	3 ml	35
12) Spurenelemente gemäß Beispiel 1 und 2		
13) Serumalbumin-Fragmente Arg-Gly, Arg-Gly-Val-Phe-Arg-Arg, Arg-Gly-Val-Phe, Arg-Gly-Val-Phe-Arg	0,01 mg	40

Die erhaltene Extraktlösung wurde auf einen pH-Wert von 6,7 eingestellt und mit bidestilliertem Wasser auf das Endvolumen von 50 l gebracht. Anschließend wurde der pH-Wert nochmals kontrolliert und der Ansatz durch ein 0,2  $\mu$ m Millipore-Filter abgefüllt.

Folgende Analysedaten des synthetischen Serumextraktes wurden ermittelt:

pH-Wert:	6,7	
Stickstoffgehalt:	1,5 mg/ml	
Trockenfeststoffgehalt:	2,9 Gew.-%	
Atmungssteigerungsfaktor:	2,2	50
Peptidnachweis:	positiv	
Sterilität:	keimfrei	
Stabilität:	über 3 Jahre	

Mit dem auf diese Weise erhaltenen synthetischen Serumextrakt wurde dessen Einfluß auf das Wachstum geschädigter Fibroblasten nach der für Actihämyl beschriebenen Methode von W. Fraefel, Forschungslaboratorien der Solco-Basel durchgeführt. Zur Bestimmung der DNA-Syntheseaktivität wurden die Einbauren von Thymidin über einen Zeitraum von 6 Tagen an Kulturgruppen mit definierter Zellzahl gemessen:

Kontrollgruppe I ungeschädigte Fibroblasten und Epithelzellen,  
Gruppe II mit CH<sub>2</sub>O geschädigte Fibroblasten und Epithelzellen (reversibel geschädigt),  
Gruppe III mit CH<sub>2</sub>O geschädigte und durch Zusatz von synthetischem Serumextrakt behandelte Fibroblasten und Epithelzellen,

Gruppe IV mit CH<sub>2</sub>O geschädigte und durch Zusatz eines natürlichen Serumextraktes behandelte Fibroblasten und Epithelzellen.

Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle III dargestellt.

Tabelle III

Thymidineinbaurate  $1 \times 10^3$ /Minuten

Gruppe	Tage			
	0	2	4	6
I Kontrolle	0	40	205	400
II	0	8	10	10
III synt. Serumextrakt	0	18	100	370
IV	0	16	110	360

Die angegebenen Werte repräsentieren Mittelwerte aus jeweils 10 Versuchen. Die wiedergegebenen Ergebnisse zeigen deutlich, daß die durch  $\text{CH}_2\text{O}$  geschädigte Fibroblastenkultur sowohl mit dem natürlichen wie auch dem erfindungsgemäßen synthetischen Serumextrakt hinsichtlich ihrer DNA-Syntheserate der als Kontrolle dienenden Kulturgruppe I angepaßt werden konnte.

## Beispiel 6

## Synthetischer Kollagenextrakt

Eine Analyse der Aminosäurezusammensetzung eines Kollagenhydrolysats ergab folgendes Aminosäure-Spektrum:

## Aminosäure-Spektrum

	g AS/100 g Protein
Alanin	10,2
Arginin	8,8
Asparaginsäure	7,0
Glutaminsäure	12,0
Glycin	26,5
Histidin	1,5
Hydroxylysin	1,1
Hydroxyprolin	12,5
Isoleucin	1,8
Leucin	4,0
Lysin	4,4
Methionin	0,5
Phenylalanin	2,2
Prolin	16,5
Serin	3,7
Threonin	2,4
Tyrosin	0,5
Valin	2,9

Es wurden 100 g der analytisch gefundenen Aminosäuren in ihren entsprechenden Gewichtsverhältnissen in 5 l bidestilliertem Wasser gelöst. Anschließend wurden dieser Lösung jeweils 10 g der Aminosäuren Glycin, L-Prolin, L-Hydroxyprolin, L-Arginin, L-Lysin und L-Serin zugegeben. Diese Lösung wurde insgesamt viermal hergestellt und mit jeweils einer der nachfolgend aufgeführten Peptidlösungen vereinigt und anschließend mit bidestilliertem Wasser auf ein jeweiliges Endvolumen von 6 l gebracht.

## Peptidlösungen

a) 30 g Pepton wurden in 900 ml Wasser gelöst und mit 10 g Aktivkohle behandelt, über Nacht gerührt und dann filtriert.

b) Peptidlösung, erhalten durch eine 6 Stunden lange Partialhydrolyse eines Peptons mit 2,5 N HCl im Rührautoklaven bei einer Temperatur von  $110^\circ\text{C}$ . Die Lösung wurde nach Abkühlen und Filtrieren durch Zugabe von NaOH auf eine Alkalität von 1 N NaOH gebracht und durch Dialyse entsalzt. Nach einer 24 Stunden langen Behandlung mit Aktivkohle wurde der pH-Wert der Lösung auf 6,0 eingestellt und steriltriftriert, bevor das Partialhydrolysat aus Peptiden und Aminosäuren der Hauptlösung in einer Menge von 5 Gew.% zugegeben wurde.

c) Eine durch Partialhydrolyse von Peptonen mittels geeigneter Proteinasen hergestellte Peptidlösung wurde nach Dialyse mit NaOH auf einen pH-Wert von 8,5 eingestellt und 4 Tage lang bei einer Temperatur von 6°C gelagert. Anschließend wurde die Lösung auf eine Alkalinität von 1 N NaOH gebracht und nach 90 Minuten auf einen pH-Wert von 6,4 eingestellt. Im Anschluß an eine Behandlung mit Aktivkohle, einer Entsalzung und einer Filtration wurde eine Peptidaminosäurelösung erhalten, die sterilfiltriert und der Grundlösung in einer Menge von 5 Gew.% zugegeben wurde. 5

d) Unter Verwendung der Tripeptide Glutathion, Gly-Pro-His, Gly-Ala-Pro, Gly-His-Lys, Gly-Hyp-Pro, Gly-Pro-Ala, Gly-Lys-Pro, Gly-His-Arg, Gly-Lys-Lys, Gly-Lys-His, Gly-Gly-His, Gly-Arg-His und Gly-His-Hyp in einer Gesamtmenge von 1000 mg in bidestilliertem Wasser wurde eine synthetische Peptidlösung hergestellt, die sterilfiltriert und der Hauptlösung zugegeben wurde. 10

Den vier auf diese Weise erhaltenen Ansätzen von jeweils 6 l wurden dann die in Beispiel 1 unter (c) bis (g) und (i) genannten Komponenten zugegeben. Die Ansätze wurden anschließend getrennt ultrafiltriert (Molgewicht unter 3000) und durch ein Millipore-Filter mit einer Maschenweite von 0,2 µm sterilfiltriert und in Vorratsgefäße abgefüllt. 15

Es zeigte sich, daß die Hautpflegeeigenschaften und die Eigenschaften der Zellaktivität und des Feuchtigkeitsgehaltes von Creme-Grundlagen unter Verwendung von 2 bis 5 Gew.% dieser synthetischen Kollagenextrakte, bezogen auf das Gesamtgewicht der Salbengrundlage, eindeutig verbessert werden konnten. Es wurde eine Reihe von Creme-Grundlagen hergestellt, welche die folgenden Gewichtsteile enthielten: 20

Cetanol	41 Gew.-%	20
Vaseline	14 Gew.-%	
Polyoxyethylenlaurylether	0,4 Gew.-%	
Sorbitansequioleat	4 Gew.-%	
synthetischer Kollagenextrakt	4 Gew.-%	25
Wasser, ad	100 Gew.-%	

Zum Nachweis der gesteigerten Zellaktivität wurden Zellkulturtests, Warburg-Versuche zur Zellatmung sowie Versuche zur Steigerung des Wachstums von Fibroblasten (vgl. Beispiel 5) durchgeführt. 30

#### Ergebnisse

Zellkulturtest: Klontest gemäß Beispiel 8	190%	
Atmungssteigerungsfaktor (Warburg):	2,2%	35
Fibroblastenwachstum nach 6 Tagen (Thymidin-Einbaurate):	$350 \times 10^3$	

#### Beispiel 7

##### Synthetischer Bindegewebsextrakt

In einer wäßrigen Lösung, die 0,1% 4-Hydroxybenzoesäureester und 0,2% sorbinsaures Kaliumsalz enthielt, wurden die folgenden Bestandteile in der angegebenen Reihenfolge gelöst, wobei sich die Mengen auf jeweils 1 l des Gesamtansatzes beziehen: 45

a) Glycin, Alanin, Prolin, Hydroxyprolin	je 0,6 g	
Asparaginsäure, Serin, Glutaminsäure, Lysin, Arginin	je 0,3 g	
Threonin, Valin, Methionin, Isoleucin, Leucin, Phenylalanin, Histidin, Tyrosin	je 0,08 g	50
b) Peptide, die durch chemische Hydrolyse (NaOH, HCl) von Gelatinepeptonen und 90 Minuten langes Nachbehandeln mit 1 N NaOH, Entsalzung und Ultrafiltration (Molgewicht unter 2000) erhalten wurden	10 g	
c) Synthetische Peptidfragmente Glutathion, Gly-Pro-His, Gly-Ala-Pro, Gly-His-Lys, Gly-Hyp-Pro, Gly-Pro-Ala, Gly-Lys-Pro, Gly-His-Arg, Gly-Lys-Lys, Gly-Lys-His, Gly-Gly-His, Gly-Arg-His und Gly-His-Hyp	1 g	55
d) Komponenten (c), (d), (e), (f), (g) und (i) gemäß Beispiel 1		

Der auf diese erhaltene Ansatz wurde durch ein Millipore-Filter mit einer Maschenweite von 0,2 µm sterilfiltriert und es wurden unter sterilen Bedingungen die folgenden hochmolekularen Bindegewebskomponenten hinzugegeben: 60

Hyaluronsaures Natrium	2 g/l	
Chondroitinsulfat (Natriumsalz)	17,5 g/l	65
Keratinsulfat	1 g/l	

Die genannten hochmolekularen Komponenten wurden vor Zugabe zu dem Ansatz durch mehrfache Begasung mit Ethylenoxid und Nachspülen mit Stickstoff keimfrei gemacht. Diese Maßnahme ist erforderlich, um eine sterile Endlösung zu erhalten, da die Endlösung aufgrund ihres Gehaltes an hochmolekularen Komponenten nicht sterilisiert werden kann.

Bei der Analyse der synthetischen Bindegewebsextraktlösung wurden die folgenden Daten ermittelt:

pH-Wert	6,0
Trockenstoffgehalt	6%
Stickstoffgehalt	0,9%
Mucopolysaccharide	1,1%
Schwermetalle	unter 20 ppm
Sterilität	keimfrei

#### Beispiel 8

#### Synthetischer Organextrakt ohne Konservierungsmittel

Die Herstellung von synthetischen Organextrakten erfolgte gemäß vorstehender Beispiele, jedoch ohne Zusatz von Konservierungsmitteln und ohne Zusatz von Alkoholen. Überraschend ist jedoch, daß die auf diese Weise hergestellten synthetischen Organextrakte immer noch eine Haltbarkeit bzw. Stabilität von mehr als 2 Jahren aufwiesen. Insbesondere zeigten solche Präparate bei der Anwendung als kosmetische oder medizinische Additive eine stärkere Aktivität auf das Wachstum von Zellkulturen als die Konservierungsmittel enthaltenden Additive der genannten Beispiele:

I. Bei dem gemäß Beispiel 3 beschriebenen synthetischen Milzextrakt ohne konservierende Zusätze wurde unter Anwendung der im Beispiel 3 beschriebenen Methode eine starke Stimulanz auf die Zellproliferation ermittelt, wie in Fig. 1 zu sehen ist. Die Fig. 2 zeigt im Vergleich dazu ein Explantat unter Einwirkung des gemäß Beispiel 3 hergestellten Additivs mit Konservierungszusätzen.

II. Mit Hilfe des Klontestes wurden die gemäß Beispiel 1, 2 und 5 hergestellten synthetischen Präparate mit und ohne Zusatz von Konservierungsmitteln und Zusätzen getestet:

Zur Durchführung des Klontests wurden Baby-Hamster-Kidney-Zellen (BHK-Zellen) in einer Zelldichte von 100 Zellen/Petrischale ausgesät. Das eingesetzte Nährmedium enthielt D-MEM + 1% NEAA + 1% Glutamin sowie fötales Kälberserum (10%ig) und wurde den Petrischalen in einem Gesamtvolumen von jeweils 5 ml zugegeben. Die Inkubationszeit betrug 6 Tage bei einer Temperatur von 37°C und einer CO<sub>2</sub>-Atmosphäre von 6%. Die Ergebnisse des Klontests sind in der Tabelle 4 zusammengestellt.

Tabelle IV

Präparat aus Beispiel	Klontest ohne Konservierungsmittel	Klontest mit
1	177%	120%
2	210%	140%
5	165%	120%
Kontrolle	100%	100%

#### Patentansprüche

##### 1. Synthetischer wäßriger Organextrakt, der mindestens

- eine Aminosäurekomponente mit monomeren Aminosäuren,
- eine Peptidkomponente,
- eine Nukleinsäurekomponente,
- eine Kohlenhydratkomponente und/oder eine Kohlenhydratderivatkomponente,
- eine aliphatische Carbonsäure mit 3 bis 6 Kohlenstoffatomen,
- einen aliphatischen und/oder aromatischen Alkohol mit 2 bis 7 Kohlenstoffatomen, sowie gegebenenfalls
- Vitamine,
- Mineralsalze und/oder Spurenelemente,
- Puffersubstanzen und
- Konservierungsstoffe enthält, dadurch gekennzeichnet, daß die Aminosäurekomponente (a) und die Peptidkomponente (b) jeweils eine oder mehrere der zu den Gruppen 2I) Glycin, L-Prolin, L-Hydroxyprolin, L-Alanin, II) L-Glutaminsäure, L-Asparaginsäure, L-Asparagin, III) L-Arginin, L-Serin, L-Lysin gehörenden Aminosäuren in einer Gesamtmenge von mindestens 60 Mol.%, bezogen auf die Gesamtmenge der Aminosäuren der Komponenten (a) und (b), enthalten, wobei sich die Summe aus (I), (II) und (III) zu mindestens 60 Mol.% aus Aminosäure(n) der Gruppe (I), zu mindestens 10 Mol.% aus Aminosäure(n) der Gruppe (II) und zu mindestens 5 Mol.% aus Aminosäure(n) der Gruppe (III)

- zusammensetzt, und daß
- die Komponente (c) in einer Menge von 0,01 bis 2,5 g/l synthetischer Extraktlösung enthalten ist,
  - die Komponente (d) mindestens einen Zuckeralkohol aus der Gruppe bestehend aus Sorbit, Mannit, Inosit und Dulcitol in einer Menge von mindestens 20 Gew.%, bezogen auf die Gesamtmenge der Aminosäuren der Komponenten (a) und (b), umfaßt,
  - die Komponente (e) in einer Menge von mindestens 5 Gew.%, bezogen auf die Gesamtmenge der Aminosäuren der Komponenten (a) und (b), enthalten ist, und daß
  - die Komponente (f) in einer Menge von 0,1 bis 15 g/l synthetischer Extraktlösung enthalten ist.
2. Synthetischer Organextrakt nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil der Aminosäuren der Komponente (b), bezogen auf die Gesamtmenge der Aminosäuren der Komponenten (a) und (b), 0,01 bis 85 Gew.% beträgt.
  3. Synthetischer Organextrakt nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil der Aminosäuren der Komponente (b), bezogen auf die Gesamtmenge der Aminosäuren der Komponenten (a) und (b), 0,01 bis 5 Gew.%, vorzugsweise 0,1 bis 1,5 Gew.% beträgt, sofern sich die Komponente (b) im wesentlichen aus Oligopeptiden mit bis zu 10 Aminosäuren zusammensetzt.
  4. Synthetischer Organextrakt nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil der Aminosäuren der Komponente (b), bezogen auf die Gesamtmenge der Aminosäuren der Komponenten (a) und (b), 5 bis 20 Gew.% beträgt, sofern die Komponente (b) auch Polypeptide mittlerer Kettenlänge einschließt.
  5. Synthetischer Organextrakt nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil der Aminosäuren der Komponente (b), bezogen auf die Gesamtmenge der Aminosäuren der Komponenten (a) und (b), 20 bis 85 Gew.% beträgt, sofern die Komponente (b) auch Polypeptide mit einer Kettenlänge von bis zu 100 Aminosäuren einschließt.
  6. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß der Anteil der Aminosäuren aus der Gruppe (I) in der Komponente (a) und/oder der Komponente (b) mindestens 75 Mol.% beträgt.
  7. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß er eine zusätzliche Stickstoffquelle ausgewählt aus Harnstoff, Cysteamin und/oder N-Methylhexosaminen in einer Menge von 2,5 bis 25 Gew.%, bezogen auf die Gesamtmenge der Aminosäuren der Komponenten (a) und (b), enthält.
  8. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß er zusätzlich Kreatinin in einer Menge von 0,05 bis 1 Gew.%, bezogen auf die Gesamtmenge der Aminosäuren der Komponenten (a) und (b), enthält.
  9. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß er die Komponente (e) in einer Menge von 0,05 bis 20 g/l synthetischer Extraktlösung enthält.
  10. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente (e) mehrere unterschiedliche Carbonsäuren aufweist, wobei mindestens eine Carbonsäure mit 4 Kohlenstoffatomen und/oder mindestens eine Carbonsäure mit 6 Kohlenstoffatomen vorhanden sind, und das Gewichtsverhältnis der Carbonsäuren mit 4 und/oder 6 Kohlenstoffatomen zu den restlichen Carbonsäuren 1 : 1 bis 7 : 1 beträgt.
  11. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß er Bernsteinsäure und/oder Äpfelsäure in einer Menge von 0,2 bis 15 g/l synthetischer Extraktlösung enthält.
  12. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente (b) mindestens eine der Aminosäuren ausgewählt aus Serin, Arginin, Lysin, Prolin und Hydroxyprolin enthält.
  13. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente (b) Peptide aufweist, die mindestens zwei der Aminosäuren Serin, Arginin, Lysin, Prolin, Hydroxyprolin und Histidin, enthalten.
  14. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente (b) im wesentlichen Tri- bis Hexapeptide, Salze derselben und/oder Metallkomplexe derselben aufweist.
  15. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß er zusätzlich Albumin enthält.
  16. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß sich die Komponente (b) mindestens teilweise aus Peptonen zusammensetzt, welche aus der Gruppe bestehend aus Sojabohnenpepton, Maispepton, Haferpepton, Hefepeptiden und/oder von partiell dehydratisierter Hefe ausgewählt sind.
  17. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, daß er monomere Aminosäuren aus der Gruppe bestehend aus Glycin, Prolin, Serin, Lysin, Arginin und Hydroxyprolin in einer Menge von 0,5 bis 50 g/l synthetischer Extraktlösung enthält.
  18. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, daß er zusätzlich Histidin in einer Menge von 0,1 bis 4,5 Mol.-%, bezogen auf die Gesamtmenge der Aminosäuren der Komponenten (a) und (b), enthält.
  19. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, daß er Hexite bis zu einer Menge von 70 g/l synthetischer Extraktlösung enthält.
  20. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 19, dadurch gekennzeichnet, daß als Alkohol (f) Benzylalkohol, Glycerin und/oder Ethanol, gegebenenfalls in Kombination mit weiteren Alkoholen, enthalten sind.
  21. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 20, dadurch gekennzeichnet, daß die Komponente (c) Inosin, Adenin, Adenosin, Guanosin, cycl. AMP und/oder AMP enthält.

22. Synthetischer Organextrakt nach den Ansprüchen 1 bis 21, dadurch gekennzeichnet, daß er frei von Konservierungsmitteln ist.

23. Verfahren zur Herstellung des synthetischen Organextraktes nach den Ansprüchen 1 bis 22, dadurch gekennzeichnet, daß man ein Gemisch aus zwei Teillösungen herstellt, wobei

— die Teillösung 1 eine wäßrige, entionisierte Lösung ist, welche die Hexite, Kohlenhydrate, leicht wasserlöslichen Aminosäuren bzw. deren Salze und gegebenenfalls Harnstoff und Konservierungsstoffe enthält, und

— die Teillösung 2 eine alkalisch-wäßrige Lösung der in Alkali leicht löslichen Aminosäuren ist, und man das alkalisch reagierende Gemisch mit den Carbonsäuren und Alkoholen versetzt, die Mineralsalze, Vitamine und Spurenelemente hinzugibt, danach die wasserlöslichen bzw. wasserlöslich gemachten Nukleinsäurekomponenten zumischt und diesen Ansatz mit einem oder mehreren desodorierten Ansätzen von die Peptidkomponente (b) enthaltenden wäßrigen Lösungen vereinigt und nach Einstellen des Endvolumens mit Wasser den pH-Wert der erhaltenen Lösung auf einen Bereich von vorzugsweise 6,0 bis 7,5 einstellt und dann die Lösung sterilfiltriert.

24. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß die Misch- und Lösungsschritte unter stetigem Rühren und unter Stickstoff-Schutzatmosphäre durchgeführt werden.

25. Verfahren nach den Ansprüchen 23 und 24, dadurch gekennzeichnet, daß die Desodorierung der Peptidlösungen nach deren Homogenisierung mit Aktivkohle unter Rühren für eine ausreichende Zeit lang durchgeführt wird.

26. Verfahren nach den Ansprüchen 23 bis 25, dadurch gekennzeichnet, daß sämtliche Schritte unter pyrogenfreien Bedingungen durchgeführt werden.

27. Verfahren nach den Ansprüchen 23 bis 26, dadurch gekennzeichnet, daß die synthetische Organextraktlösung auf einen Trockenstoffgehalt von 0,5 bis 10 Gew.% eingestellt wird.

28. Verwendung des synthetischen Organextraktes nach den Ansprüchen 1 bis 22 als Ersatz oder als Ergänzung für Placenta-, Thymus-, Blut-, Milz-, Leber-, Kollagen-, Bindegewebs-, Amnionflüssigkeits-, Qualen-, Rogen- und Euterextrakte bzw. für deren Kombinationen.

29. Verwendung des synthetischen Organextraktes nach den Ansprüchen 1 bis 22 zur Herstellung einer kosmetischen Formulierung.

30. Verwendung einer Kombination aus zwei oder mehreren synthetischen Organextrakten nach den Ansprüchen 1 bis 22 zur Herstellung einer kosmetischen Formulierung.

31. Verwendung des synthetischen Organextraktes nach den Ansprüchen 1 bis 22 zur Herstellung eines medizinischen Präparates zur topischen, subkutanen oder intramuskulären Applikation für die Zwecke der äußeren und inneren Wundheilung.

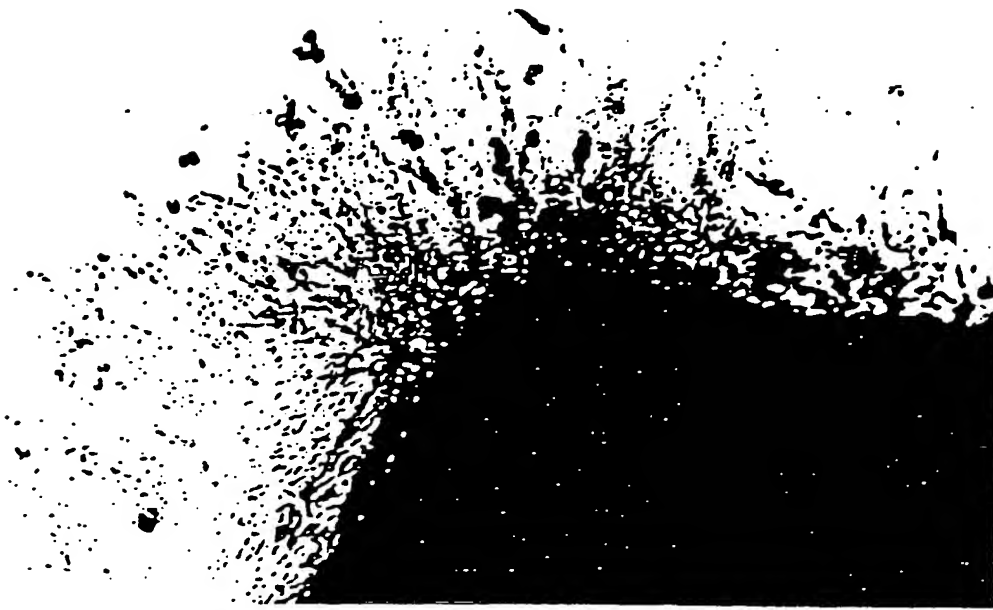
32. Verwendung des synthetischen Organextraktes nach den Ansprüchen 1 bis 22 zur Herstellung eines medizinischen Präparates zur Stärkung des Immunsystems.

33. Verwendung des synthetischen Organextraktes nach den Ansprüchen 1 bis 22 zur Herstellung eines medizinischen Präparates zur Aktivierung des Zellstoffwechsels.

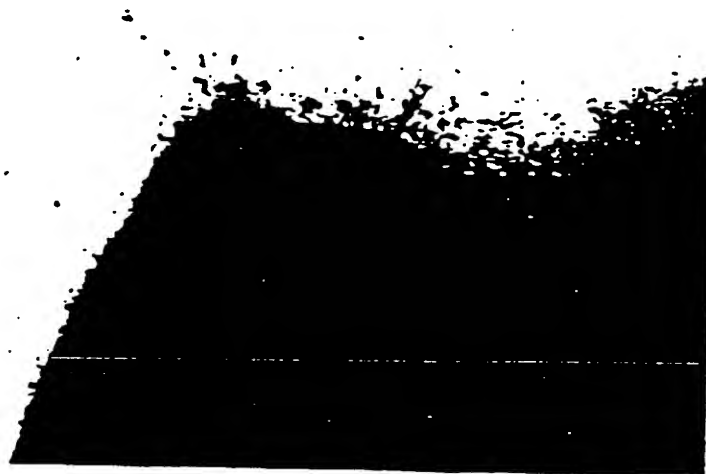
34. Verwendung des synthetischen Organextraktes nach den Ansprüchen 1 bis 22 zur Herstellung eines medizinischen Präparates zur Behandlung gastroenterologischer Erkrankungen, insbesondere Ulcera.

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

- Leerseite -



Figur 1: Gastro-Explantat unter dem Einfluß der gemäß Beispiel 3 hergestellten synthetischen Organextraktlösung ohne Konservierungsmittel



Figur 2: Gastro-Explantat unter dem Einfluß der gemäß Beispiel 3 hergestellten synthetischen Organextraktlösung mit Konservierungsmittel

BEST AVAILABLE COPY